

**KETTELIN APARECIDA ARBOS**

**QUALIDADE SANITÁRIA E NUTRICIONAL DE HORTALIÇAS  
ORGÂNICAS**

**CURITIBA  
2009**

**KETTELIN APARECIDA ARBOS**

**QUALIDADE SANITÁRIA E NUTRICIONAL DE HORTALIÇAS  
ORGÂNICAS**

Tese apresentada como requisito parcial a  
obtenção do grau de Doutor do Programa de  
Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos,  
do Setor de Tecnologia da Universidade  
Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Renato João Sossela de  
Freitas

Co-orientadora: Dra Sônia Cachoeira Stertz

**CURITIBA  
2009**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenvolvimento da Agricultura Orgânica Mundial nos anos de 2000 a 2008 .....	11
Figura 2 – Procedimento para prova presuntiva de coliformes pelo método do número mais provável .....	33
Figura 3 – Procedimento para prova confirmatória de coliformes pelo método do número mais provável .....	34
Figura 4 – Contaminação por coliformes nas amostras de alface orgânica provenientes da Região Metropolitana de Curitiba .....	52
Figura 5 – Contaminação parasitológica das hortaliças orgânicas provenientes da Região Metropolitana de Curitiba .....	61
Figura 6 – Contaminação parasitológica das amostras de cenouras orgânicas provenientes da Região Metropolitana de Curitiba .....	66
Figura 7- Espécies reativas de oxigênio comumente geradas durante processos metabólicos .....	111
Figura 8 - Conversão do oxigênio em água em sistemas enzimáticos biológicos .....	114
Figura 9 - Seqüência de oxidação do ácido ascórbico .....	117
Figura 10 - Estrutura química do flavonóide rutina .....	119
Figura 11 - Mecanismo de redução do radical livre DPPH .....	122
Figura 12 - Proposta de mecanismos de reação para substâncias fenólicas com DPPH.....	124
Figura 13 – Bandejas para semeadura e crescimento de mudas .....	127
Figura 14 – Início da preparação dos extratos metanólicos .....	128
Figura 15 - Atividade antioxidante de extrato de rúcula orgânica avaliada pelo método de redução do DPPH .....	132
Figura 16 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de alface orgânico (mg/mL) .....	135
Figura 17 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de alface convencional (mg/mL).....	135
Figura 18 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de rúcula orgânica (mg/mL) .....	136
Figura 19 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de rúcula convencional (mg/mL) .....	136
Figura 20 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de almeirão orgânico (mg/mL) .....	137
Figura 21 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de almeirão convencional (mg/mL) .....	137
Figura 22 - Avaliação da capacidade antioxidante dos extrato das hortaliças pelo método de redução do radical DPPH.....	141

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação das propriedades visitadas na Região Metropolitana de Curitiba .....	46
Tabela 2 – Coliformes totais e fecais nas hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba .....	50
Tabela 3 – Salmonella nas hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba.....	54
Tabela 4 – Contaminação parasitológica nas diferentes hortaliças analisadas .....	58
Tabela 5 – Frequência de contaminação parasitológica das hortaliças orgânicas provenientes da Região Metropolitana de Curitiba .....	60
Tabela 6– Quantidade de ovos e larvas de parasitas nas hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba .....	67
Tabela 7 - Determinações físico-químicas em amostras de alface obtidas pelo sistema de cultivo orgânico na RMC .....	69
Tabela 8 - Determinações físico-químicas em amostras de tomate obtidas pelo sistema de cultivo orgânico na RMC .....	72
Tabela 9 - Determinações físico-químicas em amostras de cenoura obtidas pelo sistema de cultivo orgânico na RMC .....	76
Tabela 10 - Concentração Inibitória dos extratos de rúcula, almeirão e alface, segundo método do DPPH.....	138
Tabela 11 – Capacidade antioxidante dos extratos de alface, rúcula e almeirão (mg/ml), obtidos de cultivos orgânico e convencional, avaliada pelo método do DPPH, usando-se a vitamina C como padrão de referência .....	140
Tabela 12 - Teor de fenólicos totais, expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de hortaliça.....	143

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIações E SIGLAS

CF	coliformes fecais
CT	coliformes totais
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAG	equivalentes de ácido gálico
EMATER	Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FAO	Food and Agriculture Organization - Organização das Nações Unidas para agricultura e Alimentação
GSH	glutamina reduzida
GSSG	glutamina oxidada
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peróxido de hidrogênio
ha	hectares
IFOAM	(International Federation of Organic Agriculture Movements)- Federação Internacional dos Movimentos de Agricultura Orgânica -
INCR	Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária
MBA	Maurício Burmster do Amaral
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
O <sub>2</sub>	oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-•</sup>	ânion superóxido
OH <sup>•</sup>	íon hidroxila
ONG	Organizações não governamentais
RMC	Região Metropolitana de Curitiba
SEAB	Secretaria da Agricultura e do Abastecimento
SOD	superóxido dismutase;
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
UNIDERP	Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal
XLD	ágar xilose lisina desoxicolato

*A Deus, que conduz minha vida e me deu forças  
para vencer mais este desafio*

*A UFPR, por toda minha formação profissional.*

*Aos meus orientadores, pelo constante apoio,  
incentivo e confiança, fundamentais em todos os momentos.*

*A UNIDERP por ter acreditado, tanto quanto eu,  
no sucesso deste trabalho e pelo apoio financeiro.*

*Aos meus pais Marcos e Sueli, que compartilharam  
comigo conquistas e derrotas no percurso de minha vida.*

*As minhas queridas irmãs Kerlay e Kemyle, pelo  
constante carinho e por tornam minha vida especial.*

*A minha filha amada Sophia, a quem dedico este  
trabalho, por me dar um significado e uma razão para a minha  
vida.*

*E a todos aqueles que, voluntariamente, doaram  
seu sangue em prol desta investigação científica.*

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1 - QUALIDADE SANITÁRIA DE HORTALIÇAS ORGÂNICAS DA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA**

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>02</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	04
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>06</b>
2.1 EVOLUÇÃO DA AGRICULTURA .....	06
2.2 SUSTENTABILIDADE NA AGRICULTURA ORGÂNICA .....	08
2.3 AGRICULTURA ORGÂNICA: MODALIDADES E CONCEITOS .....	09
2.4 PANORAMA DA AGRICULTURA ORGÂNICA.....	11
2.5 AGRICULTURA ORGÂNICA NO BRASIL .....	12
2.6 CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS ORGÂNICOS .....	17
2.7 COMERCIALIZAÇÃO DOS PRODUTOS ORGÂNICOS .....	20
2.8 DIFICULDADES DO MERCADO DE ORGÂNICOS .....	21
2.9 SEGURANÇA ALIMENTAR .....	22
2.10 COMPARAÇÕES ENTRE O SISTEMA DE PRODUÇÃO ORGÂNICO E CONVENCIONAL .....	26
2.11 OBJETIVOS .....	29
2.11.1 Objetivo Principal .....	29
2.11.2 Objetivos Específicos .....	29
<b>3. METODOLOGIA .....</b>	<b>30</b>
3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA DA PESQUISA .....	30
3.1.1 Coleta do material .....	31
3.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....	32
3.2.1 Preparo das Amostras para Análises Microbiológicas .....	32
3.2.2 Técnica do Número Mais Provável (NMP) .....	33
3.2.3 Detecção de <i>Salmonella</i> sp. ....	34
3.2.4 Análises Parasitológicas .....	36
3.2.5 Determinações físico-químicas .....	37
3.2.5.1 Determinação de umidade e voláteis a 105°C .....	37
3.2.5.2 Determinação de sólidos totais (%) .....	38
3.2.5.3 Determinação de resíduo mineral fixo (Cinzas) .....	38
3.2.5.4 Determinação do teor de proteínas (%) .....	39
3.2.5.5 Determinação de lipídios (%) .....	40
3.2.5.6 Determinação de pH .....	41
3.2.5.7 Determinação de fibra alimentar total .....	41
3.2.5.8 Determinação de carboidratos .....	42

3.2.5.9 Determinação do valor calórico.....	42
3.2.5.10 Determinação de vitamina C.....	43
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES VISISTADAS.....	44
4.2 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICAS DAS HORTALIÇAS ORGÂNICAS .....	49
4.3 AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA DAS HORTALIÇAS ORGÂNICAS.....	57
4.4 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS.....	69
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>78</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>80</b>



## RESUMO

A procura por alimentos orgânicos é expressiva em todo o mundo devido à conscientização da população sobre os riscos para a saúde decorrentes da presença de resíduos químicos nos alimentos. Vários trabalhos sugerem que algumas práticas do sistema orgânico, como o uso de esterco animal e a proibição de aplicação de agrotóxicos possam aumentar o risco de uma contaminação microbiológica e parasitária, tornando o alimento não adequado ao consumo. Dessa forma, a presente pesquisa teve como objetivo determinar a qualidade sanitária de hortaliças orgânicas no que se refere à contaminação microbiológica por coliformes totais e fecais, presença de *Salmonella* sp. e contaminação parasitológica. Adicionalmente, descreveu-se a qualidade nutricional através de análises de características físico-químicas de alface, tomate e cenoura, cultivados organicamente provenientes da Região Metropolitana de Curitiba-PR. Coliformes fecais foram detectados em 40% das amostras de alface e em 25% das amostras de cenoura. A presença de *Salmonella* sp. foi verificada em 25% das amostras de cenoura e em 20% das amostras de alface. As amostras de tomate orgânico avaliadas apresentaram ausência de coliformes fecais e *Salmonella* sp. Os principais parasitas identificados nas amostras de alface orgânica foram: *Entamoeba* sp., ovos de ácaro, ovos de ancilostomídeo e insetos (pulgões). Nas amostras de cenoura orgânica foram identificados ovos de ancilostomídeo, cistos de *Entamoeba* sp., *Entamoeba* sp. e ovos de *Toxocara* sp. Nenhuma estrutura parasitária foi identificada nas amostras de tomate orgânico. A presença de coliformes fecais, *Salmonella* sp. e estruturas parasitárias em algumas amostras de alface e cenoura orgânicas demonstraram que as mesmas foram contaminadas de alguma forma, seja através da água de irrigação, presença de animais silvestres ou domésticos, solo contaminado ou emprego de adubos sem tempo de compostagem adequado. No entanto, ao ser comparado os resultados obtidos da qualidade microbiológica e parasitológica das hortaliças orgânicas, com dados presentes na literatura, pode-se verificar que o modo de cultivo, convencional ou orgânico, não interfere preponderantemente na qualidade das hortaliças, e sim que práticas inadequadas de produção aumentam significativamente o nível de contaminação.

Palavras-chave: hortaliças; cultivo orgânico; qualidade sanitária; valor nutricional.

## ABSTRACT

The search for organic foods is expressive worldwide due to the population awareness about the health risks coming from the presence of chemical residues in foods. Some authors suggest that certain organic system production standard procedures such as the use of animal manure and the prohibition of application of conventional pesticides can increase the microbiological and parasitic risks and hence these foods would not be suitable for human consumption. In this context, the present research aimed at the determination of the sanitary quality of organic vegetables by means of microbiological evaluation of total and thermotolerant coliforms, *Salmonella* sp. and parasitological contamination. Moreover, samples of organic lettuce, carrot and tomato came from the Metropolitan Region of Curitiba-PR were submitted to physicochemical evaluation to assess their nutritional quality. Thermotolerant coliforms were detected in 40% of the lettuce trials and in 25% of the carrots. It was observed that 25% of the carrot and 20% of lettuce samples presented *Salmonella* sp., while the tomato samples did not present thermotolerant coliforms and *Salmonella* sp. The major parasites identified on the lettuce samples were acarids, *Entamoeba* sp., eggs of *Ancylostoma* sp. and insects. On the organic carrot samples were identified *Entamoeba* sp., eggs of *Ancylostoma* sp. and *Toxocara* sp., while tomato samples did not present any parasitological contamination. The data suggest that the organic lettuce and carrot samples might have been contaminated, somehow, by earth or water, domestic animals or not-suitable fertilizers. However, when a comparison of the microbiological and parasitological evaluation was performed with the literature, it could be verified that inadequate production practices increase the level of contamination of food products and the way vegetables are cultivated, organic or traditional, does not interfere significantly on their quality.

Key-words: vegetables; organic farming; sanitary quality; nutritional value.

## **CAPÍTULO 2 - EFEITO DOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO ORGÂNICO E CONVENCIONAL NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE HORTALIÇAS**

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>109</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>111</b>
2.1 ANTIOXIDANTES .....	113
2.1.1 Antioxidantes enzimáticos .....	113
2.1.2 Antioxidantes sintéticos.....	115
2.1.3 Antioxidantes não enzimáticos .....	115
2.2 VEGETAIS COMO PROTETORES E PROMOTORES DA SAÚDE .....	116
2.3 MÉTODOS EXPERIMENTAIS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	121
2.4 OBJETIVOS .....	125
2.4.1 Objetivo Principal.....	125
2.4.2 Objetivos Específicos .....	125
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>126</b>
3.1 DESENVOLVIMENTO DE UMA HORTA EXPERIMENTAL.....	126
3.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS.....	128
3.3 ENSAIO DE REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH .....	129
3.4 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS .....	130
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	131
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>132</b>
4.1 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DAS HORTALIÇAS PELO MÉTODO DE REDUÇÃO DO DPPH.....	132
4.2 EXPRESSÃO DOS RESULTADOS DO ENSAIO DE REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH .....	134
4.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS .....	143
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>147</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>148</b>
<b>ANEXO 1- QUESTIONÁRIO COM PRODUTOR ORGÂNICO DA RMC.....</b>	<b>161</b>
<b>ANEXO 2 – NÚMERO MAIS PROVÁVEL.....</b>	<b>162</b>

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do sistema de cultivo na qualidade de alface, rúcula e almeirão através da comparação da atividade antioxidante entre estas hortaliças. Para tanto, sementes de um mesmo lote foram plantadas no sistema orgânico e convencional de forma que a maturidade comercial fosse atingida ao mesmo tempo para ambos os sistemas. A atividade antioxidante dos extratos metanólicos das hortaliças foi determinada através do ensaio do DPPH. Todas as hortaliças investigadas exibiram propriedade antioxidante, entretanto a ação foi diferenciada entre os vegetais. A atividade antioxidante contra o radical livre DPPH foi: rúcula orgânica > almeirão orgânico > alface orgânica > rúcula convencional > almeirão convencional > alface convencional. Os extratos das hortaliças avaliados demonstraram relevante capacidade antioxidante, porém com variação na intensidade do efeito dependendo da espécie estudada, da concentração do extrato, assim como do tipo de cultivo, destacando-se a ação superior das hortaliças orgânicas. Desta forma, recomenda-se o consumo de hortaliças, em particular aquelas provenientes de um cultivo orgânico, como parte integrante da dieta, pois podem representar importante fonte de antioxidantes naturais.

Palavras-chave: hortaliças; ação antioxidante; cultivo orgânico; cultivo convencional; DPPH.

## **ABSTRACT**

The objective this study was to evaluate the effect of cultivation systems on the quality of lettuce, rocket press and chicory through comparison the antioxidants activity between these vegetable. Seeds from a single batch were planted using the organic and conventional systems such that commercial maturity was reached on the same time for the both systems. Methanol extracts were screened for their antioxidant activity using DPPH free radical scavenging assay. All vegetables showed antioxidant properties however the action was differentiated among the kinds of vegetables. Antioxidant activity against DPPH radical was in the order of organic rocket press > organic chicory > organic lettuce > conventional rocket press > conventional chicory > conventional lettuce. The extracts of vegetables evaluated demonstrated significant antioxidant capacity, but with variations in the intensity of the effect depending on the species studied, the concentration of the extract, as well as the type of cultivation, especially the action of higher organic vegetables. Thus, it is recommended the consumption of vegetables, particularly those coming from an organic farming as part of the diet, they may represent important source of natural antioxidants.

Keyword: vegetable; antioxidant action, organic cultivation, conventional cultivation, DPPH



# **QUALIDADE SANITÁRIA DE HORTALIÇAS ORGÂNICAS DA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA**

---

## **Capítulo 1**

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil, país de dimensões continentais, apresenta cerca de 20% do solo agriculturável do mundo e demais condições que tornam um dos principais produtores de alimentos do planeta. A responsabilidade no manejo dessa reserva é muito grande, pois se trata de um recurso estratégico, não renovável, de alta importância social, econômica e ambiental (PERES, 1999; ARAUJO, FONSECA e ARAUJO, 2005).

Ao longo do processo de modernização da agricultura no Brasil, muitos problemas ambientais e de saúde surgiram em decorrência da intensa mecanização e o uso indiscriminado de agrotóxicos. A difusão dos aspectos negativos da agricultura tradicional, tais como esgotamento dos recursos naturais, degradação ambiental e os riscos de sobrevivência do planeta às gerações futuras, reforça a necessidade da construção de um novo paradigma de desenvolvimento, no qual o crescimento econômico e a garantia de condições dignas de vida à população passassem a ser enfocados nos limites da sustentabilidade do meio ambiente (ORMOND et al., 2002).

Percebe-se, atualmente, que em nível mundial, está ocorrendo um grande incremento e interesse pela agricultura orgânica e seus produtos, cujos sistemas de produção levam em consideração a sustentabilidade ambiental.

A agricultura orgânica oferece numerosas vantagens ambientais, comparativamente a agricultura convencional, onde os agroquímicos utilizados podem contaminar as águas, perturbar processos ecológicos, prejudicar microorganismos benéficos e causar problemas de saúde a produtores e consumidores. Em contraste, a agricultura orgânica está orientada a melhorar a biodiversidade, restabelecer o equilíbrio ecológico natural, conservar o solo e os recursos hídricos, além das vantagens sociais, pois normalmente requer mais mão de obra, aumentando as oportunidades de emprego (FAO, 2002).

No Brasil, a agricultura familiar e a agricultura orgânica encontram-se estreitamente articuladas, uma vez que cerca de 90% da produção orgânica é realizada por mão de obra familiar. A agricultura orgânica, mais do que ecológica e tecnologicamente sustentável, representa, para a agricultura familiar, uma estratégia para a manutenção do modo de vida rural. A filosofia do manejo orgânico implica

em valorização do conhecimento do agricultor, de tomadas de decisão da família, da troca de trabalho, sementes e conhecimento com outros agricultores, o que significa uma atitude política diante das condições da vida social (CARMO, 1998; CAMPANHOLA e VALARINI, 2001; KARAM e ZOLDAN, 2003).

A procura por alimentos orgânicos é expressiva em todo o mundo, devido a conscientização da população sobre os riscos para a saúde, decorrentes da presença de resíduos químicos nos alimentos (PENTEADO, 2000; MACHADO e CORAZZA, 2004). A garantia de alimento livre de contaminantes é essencial para a prevenção de doenças, principalmente em um país como o Brasil, onde uma parte considerável da população enfrenta sérios problemas de carência nutricional e de acesso ao sistema público de saúde (CALDAS, 2000).

O mercado mundial de produtos orgânico cresceu na década de 90 cerca de 10% ao ano, mas na virada do século houve um aceleração vertiginosa, com estimativas de crescimento em torno de 40 a 50%, em termos de volume de produtos comercializados (CHAIM, 2002; WILLER e YUSSEFI, 2007). O mercado de orgânicos movimentou em 2007-2008 cerca de US\$ 40 bilhões (R\$ 89,2 bilhões) ao ano, no mundo (LUNARDON, 2009).

Estima-se que a área cultivada sob manejo orgânico no Brasil na safra de 2007 foi de aproximadamente 887 mil ha, o triplo da área ocupada em 2001 (YUSSEFI e WILLER, 2003; WILLER e YUSSEFI, 2007). A maior parte da produção orgânica brasileira (80%) encontra-se nos estados do Sul e Sudeste (BUAINAIN e BATALHA, 2007), sendo que a produção orgânica no Paraná destaca-se nacionalmente, com crescimento superior a 1200% nas últimas 8 safras. As principais culturas exploradas são a de soja, hortaliças, frutas e cana de açúcar (HAMERSCHMIDT, 2005).

Alguns estudos indicam que existem diferenças relativas à qualidade, quando são considerados atributos como sabor, valor nutricional mediante comparação entre os alimentos produzidos orgânica e convencionalmente (MIYAZAWA, 2001; FERREIRA, 2004; STERTZ, 2004; BORGUINI, 2006; FAVARO-TRINDADE, 2007). No entanto, as evidências até o momento, não são suficientes para afirmar a superioridade dos orgânicos no tocante a qualidade nutricional ou sensorial, e os benefícios do seu consumo para a saúde do consumidor. Desse modo, são fundamentais que novas pesquisas que avaliem a qualidade dos alimentos orgânicos sejam desenvolvidas.



Cabe ressaltar também que um dos pontos muito questionados referente às práticas da agricultura orgânica seja a possibilidade de contaminação microbiológica e parasitária causada pelo uso intensivo de dejetos animais. Bourn e Prescott (2002) revisaram alguns trabalhos sobre esta temática, mas não verificaram nenhuma evidência de que alimentos orgânicos possam ser mais suscetíveis à contaminação microbiológica que alimentos convencionais.

Segundo Darolt (2003), um maior número de informações possíveis deve estar disponível ao consumidor na hora da escolha de um alimento de qualidade. E esta responsabilidade deve ser assumida pelas Universidades e Instituições de Pesquisa, em parceria com o Governo.

Tendo em vista as considerações feitas acima, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas no tocante não apenas dos aspectos nutricionais como também sanitários, uma vez que a qualidade do alimento é multidimensional, sendo uma combinação de atributos microbiológicos, nutricionais e sensoriais.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

Na agricultura, o modelo de produção baseado em tecnologias difundidas a partir da Revolução Verde tem dado sinais de esgotamento, como exclusão social e aumento da degradação ambiental, determinando elevação dos custos de produção.

A agricultura, sob essa ótica de eficiência e especialização, tem se tornado mais utilizadora de insumos e tem causado outros problemas como o aparecimento de pragas mais resistentes, forçando os agricultores a aplicarem agrotóxicos de forma mais intensiva. Entretanto, sistemas alternativos de produção baseados em princípios agroecológicos têm sido cada vez mais aceitos e respaldados pela comunidade científica como opção para garantia de segurança alimentar, combate a pobreza, e conservação ambiental (ASSIS, 2003; CAMPOS, 2005).

No entanto, muito ainda precisar ser feito, pois embora a agricultura orgânica tenha iniciado na década de 20, a maioria das pesquisas ainda é recente, voltada principalmente para a comparação de produtividades com a agricultura convencional (ORMOND et al., 2002).

Stertz (2004) analisou mais de 100 amostras de frutas e hortaliças orgânicas, apontando a necessidade de mais estudos enfocando entre outros aspectos a biodisponibilidade de nutrientes e não nutrientes, como os compostos fenólicos e

carotenóides. Ferreira (2004), estudando as características de tomate, verificou que os frutos cultivado nos sistemas convencional e orgânico no estágio verde maduro não apresentaram *Salmonella* spp., coliformes fecais e coliformes totais. No entanto, em todas os estádios de maturação, o tomate de mesa cultivado nos sistemas convencional e orgânico apresentaram contagem de bolores e leveduras acima de  $10^2$  (UFC/g), apresentando um risco ao consumidor se não for devidamente higienizado.

Cabe ainda, ressaltar que frutas e hortaliças são reconhecidamente fontes potenciais de patógenos relevantes em Saúde Pública. Esses produtos ao serem consumidos crus podem servir de via de transmissão, uma vez que parasitas, bactérias e vírus podem estar presentes, devido a contaminação do solo e águas de irrigação, por fezes, esgotos, entulhos, práticas de lavagem em água parada, armazenamento impróprio, recipientes e equipamentos contaminadas.

Diversos autores citam que a principal fonte de contaminação microbiológica e parasitária dos alimentos é originária na produção, seja pela utilização de água de irrigação contaminada ou uso inadequado de adubos (OLIVEIRA e GERMANO, 1992b; 1992a; TAKAYANAGUI et al., 2001; FREITAS et al., 2004).

No Brasil, não obstante a relevância e atualidade do problema são poucos os trabalhos avaliando a qualidade sanitária de hortícolas consumidas pela população.

Desse modo, a caracterização das condições sanitárias de hortaliças consumidos na Região Metropolitana de Curitiba (RMC) é de grande importância, pois fornecerá dados para a Vigilância Sanitária além de permitir uma avaliação retrospectiva das condições em que esses produtos foram cultivados.

Devido ao fato da produção orgânica se concentrar na Região Metropolitana de Curitiba, e por esse trabalho ser pioneiro no que tange a avaliação sanitária de hortaliças de cultivo orgânico comercializados nesta região, optou-se inicialmente pelo estudo de três culturas: alface, tomate e cenoura, as quais estão frequentemente na mesa do brasileiro.

Em virtude da valorização da qualidade da dieta alimentar por parte dos consumidores, no qual a produção orgânica de alimentos tem merecido destaque, faz-se importante não apenas avaliar a qualidade microbiológica e parasitária desses alimentos, como também fornecer dados sobre a qualidade nutricional no que refere-se a comparação da atividade antioxidante de hortaliças orgânicas frente às convencionais, tema abordado no Capítulo 2 desse trabalho.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil, assim como muitos outros países tipicamente agrícolas, está buscando diferenciar seus produtos no mercado, oferecendo alimentos de maior qualidade e segurança aos consumidores. Tal anseio é devido à necessidade e demanda mundial de produtos mais saudáveis, ecologicamente corretos, rastreáveis (SILVA FILHO, PALLET e BRABET, 2002). Por esses motivos, a agricultura orgânica, nos últimos anos, vem ganhando grande importância no cenário agrícola nacional e internacional.

### 2.1 EVOLUÇÃO DA AGRICULTURA

Desde os primórdios da humanidade, o homem necessita retirar do solo parte de sua alimentação, que por milhares de anos se deu de forma “harmônica”, porém, com o aumento da população mundial e o advento do capitalismo, a agricultura passa a ser tratada, também, como uma mercadoria (CAMPOS, 2005).

O século XX foi marcado pelos intensos avanços na indústria e na ciência, o que teve forte impacto na agricultura. Entre os principais avanços realizados nesse século, está a mecanização agrícola pelo uso de tratores e máquinas de beneficiamento, a purificação de elementos químicos que possibilitou o estudo de nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas e aprofundamento do conhecimento em nutrição vegetal e o melhoramento genético que desenvolveu cultivares altamente produtivos e adaptados a diferentes condições edafoclimáticas (PRIMAVESI, 1988; SEVERINO, 2005).

Dentro desse contexto, surgiu o movimento denominado “*Revolução Verde*” caracterizado por seis práticas básicas: cultivo intensivo do solo, monocultura, irrigação, aplicação de fertilizantes sintéticos altamente solúveis, controle químico de pragas, doenças agrícolas e ervas daninhas e manipulação genética de plantas cultivadas. Na época, não havia interesse no estudo aprofundado dos impactos ao ambiente agrícola, bem como as consequências em longo prazo que a utilização dessas técnicas poderia apresentar à população mundial. As consequências desse pacote tecnológico podem ser sentidas tanto na esfera sócio-econômica, devido ao agravamento das desigualdades no campo, como ambiental. (BONILLA, 1992; CAMARGO et al., 2005).

No Brasil, a Revolução Verde foi implantada com amplo apoio das instituições governamentais, com formação de políticas agrícolas favoráveis, subsídios e ampla aceitação das universidades e entidades de pesquisa (SEVERINO, 2005).

Houve um aumento exacerbado no êxodo rural, uma vez que a agricultura convencional passou a basear-se em práticas de monoculturas, utilização de adubos químicos e maquinário agrícola, eliminando desta forma o árduo trabalho de fertilização orgânica (ROMERO, 1981; MACHADO e CORAZZA, 2004). Nesse cenário, muitos núcleos agrícolas familiares foram desintegrados, com as suas terras sendo incorporadas às grandes propriedades agropecuárias de alguns poucos privilegiados (STAUB, 2003).

Ao longo do processo de modernização da agricultura no Brasil, muitos problemas ambientais surgiram em decorrência da intensa mecanização e o uso indiscriminado de agrotóxicos, tais como degradação de solos, desertificação, destruição de florestas tropicais e a consequente diminuição da vida selvagem, poluição de mananciais hídricos e principalmente a contaminação dos alimentos (PRIMAVESI, 1988; STAUB, 2003; CAMPOS, 2005).

Apesar desta situação crítica, ainda é possível encontrar alternativas para o caos agrícola. Busca-se um projeto alternativo de desenvolvimento rural sustentável que defenda os direitos sociais do trabalhador rural. Dessa forma, a Agricultura Familiar pode garantir, além da subsistência da família, a produção de excedentes para a geração de renda, evitando que pequenos produtores sejam empurrados para a periferia das cidades (ARAUJO, FONSECA e ARAUJO, 2005).

O reconhecimento de que cerca de 70% dos estabelecimentos agrícolas do país têm como base a agricultura familiar direcionou ações políticas para o seu fortalecimento. Um bom exemplo disso foi a criação do Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (PRONAF) em 1996 e do Ministério do Desenvolvimento Agrário (MDA), em 2000. Muitos dos projetos apoiados pelo PRONAF vêm apostando na agricultura familiar como forma de produção sobre a qual se pode implementar o desenvolvimento sustentável e a qualidade de vida no meio rural (AZEVEDO, 2004).

A noção de agricultura sustentável não acolhe necessariamente a proposta da agricultura orgânica, mas aproxima-se da sua dimensão enquanto estimuladora de um desenvolvimento rural sustentável (CARMO, 1998).

## 2.2 SUSTENTABILIDADE NA AGRICULTURA ORGÂNICA

O reconhecimento da importância da questão ambiental tem determinado uma discussão cada vez maior sobre os padrões de desenvolvimento sustentável e as implicações das interações entre suas diferentes dimensões: econômica, social, ambiental e cultural. O caso da agricultura apresenta boa oportunidade para ampliar essa discussão, pois, nesse setor da economia, o mau uso dos recursos naturais ao longo do processo produtivo não representa somente uma externalidade decorrente da degradação dos recursos ambientais, mas também um aumento nos custos de produção em função de uma maior demanda por insumos que esta degradação provoca (ASSIS, 2003).

Alcançar a sustentabilidade deve representar uma significativa diminuição de aportes externos à unidade de produção agrícola (fertilizantes, agrotóxicos, combustíveis), redução alcançada, também, pelo manejo racional de pragas, uso da rotação de culturas e o incremento da utilização de tecnologias de baixo custo (MORENO e ALTIERI, 1994).

Na dimensão econômica o aspecto primordial é a capacidade de o sistema empregado apresentar como resultado principal uma rentabilidade adequada, significativa e estável. Deve atender as necessidades humanas das famílias dos agricultores em relação à qualidade de vida (alimentação, educação, saúde, transporte e lazer) ao mesmo tempo que garanta o funcionamento estável e produtivo da propriedade agrícola. A dimensão ecológica preconiza a administração dos recursos naturais renováveis sob uma visão de longo prazo, visando o prolongamento máximo da capacidade de utilização de tais recursos e por fim a dimensão social é representada pelas condições sócio-econômicas e culturais da sociedade da região influenciando o estado dos recursos naturais (STAUB, 2003).

De maneira geral, a sustentabilidade da agricultura deve atender as seguintes características:

- a manutenção, a longo prazo, dos recursos naturais e da produtividade agrícola;
- o mínimo de impactos adversos ao meio ambiente;
- retornos adequados aos produtores;
- otimização da produção com um mínimo de insumos externos;
- satisfação das necessidades humanas de alimentos e renda; e

- atendimento às necessidades sociais das famílias e das comunidades rurais (NATURAL RURAL, 2005).

Assim, movimentos de agricultura baseados em princípios agroecológicos cuja premissa básica é o estabelecimento de um processo de produção que não agrida o meio ambiente apresentam-se como uma alternativa para o desenvolvimento sustentável de agricultores familiares, na medida em que esses movimentos procuram estabelecer uma maior aproximação entre agricultores e consumidores a partir de uma racionalização do processo de comercialização (ASSIS, 2003).

A agricultura orgânica, devido à sua constante preocupação em oferecer condições de preservação ambiental, maior integração do homem com a terra, modos de cultivos, tem um papel importantíssimo na promoção do desenvolvimento sustentado do Brasil.

## 2.3 AGRICULTURA ORGÂNICA: MODALIDADES E CONCEITOS

A cada dia que passa, um número crescente de agricultores, que há décadas adotam os sistemas convencionais de produção agrícola, vêm se interessando pelos conceitos e práticas dos sistemas orgânicos. A agricultura orgânica faz parte do conceito abrangente de agricultura alternativa, o qual envolve também outras correntes, tais como: agricultura natural, agricultura biodinâmica, agricultura biológica, agricultura ecológica e permacultura, sendo que todas essas correntes adotam princípios semelhantes (CAMPANHOLA e VALARINI, 2001; DULLEY, 2003).

Em síntese, podemos considerar as diferentes correntes como “agricultura orgânica”, pois embora haja diversidade de idéias, alguns pontos são comuns a todas: o respeito ao ambiente através de técnicas conservacionistas e suspensão de uso de produtos danosos, respeito ao homem tanto à sua saúde à sua condição social e cultural como a visão econômica que é necessária para conquistar a sustentabilidade.

No processo de crescimento da produção e consumo dos produtos oriundos desses sistemas de produção que eram inicialmente denominados alternativos, o mercado (consumidores e produtores) optou pelo termo *orgânico* (DULLEY, 2003). Também, cabe salientar, que a legislação brasileira emprega o termo orgânico em

um sentido genérico para designar produtos proveniente de vários métodos ou sistemas de manejo agrícola.

Assim como existem diferentes correntes do movimento orgânico, existem também, inúmeras definições para conceituar a agricultura orgânica.

Ormond et al. (2002) definem agricultura orgânica como:

... um conjunto de processos de produção agrícola que parte do pressuposto básico de que a fertilidade é função direta da matéria orgânica contida no solo. A ação de microorganismos presentes nos compostos biodegradáveis existentes ou colocados no solo possibilitam o suprimento de elementos minerais e químicos necessários ao desenvolvimento dos vegetais cultivados. Complementarmente, a existência de uma abundante fauna microbiana diminui os desequilíbrios resultantes da intervenção humana na natureza. Alimentação adequada e ambiente saudável resultam em plantas mais vigorosas e mais resistentes a pragas e doenças.

No entanto, um relatório elaborado pela USDA (United States Department of Agriculture) afirma não existir nenhuma definição de agricultura orgânica universalmente aceita, o que origina as múltiplas concepções acerca de suas características básicas e de seu escopo.

No Brasil, segundo Instrução Normativa (IN) 007/99 (BRASIL, 2004), considera-se sistema orgânico de produção agropecuária e industrial como sendo:

... todo aquele em que se adotam tecnologias que otimizem o uso dos recursos naturais e socioeconômicos, respeitando a integridade cultural e tendo por objetivo a auto-sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não-renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e outros insumos artificiais tóxicos, organismos geneticamente modificados (OGM)/transgênicos ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e de consumo, e entre os mesmos privilegiando a preservação da saúde ambiental e humana, assegurando a transparência em todos os estágios da produção e da transformação.

## 2.4 PANORAMA DA AGRICULTURA ORGÂNICA

Como visto, a agricultura orgânica não é uma idéia recente, mas o incremento se deu quando a sociedade passou a ter conhecimento do potencial malefício à saúde causado pelos agrotóxicos (SEVERINO, 2000). A agricultura orgânica configura-se como uma forma de produção que reconsidera esses problemas, incentivando o emprego do campo, conservação do meio ambiente e a produção de alimentos livres de agrotóxicos (CAMPOS, 2005).

Embora tenham assumido um papel importante na mídia internacional, sobretudo por tratar-se de antítese aos alimentos geneticamente modificados, os produtos originados de produção orgânica ainda representam uma parte muito pequena do mercado de alimentos. As informações sobre sua participação no mercado mundial são difusas e muitas vezes imprecisas.

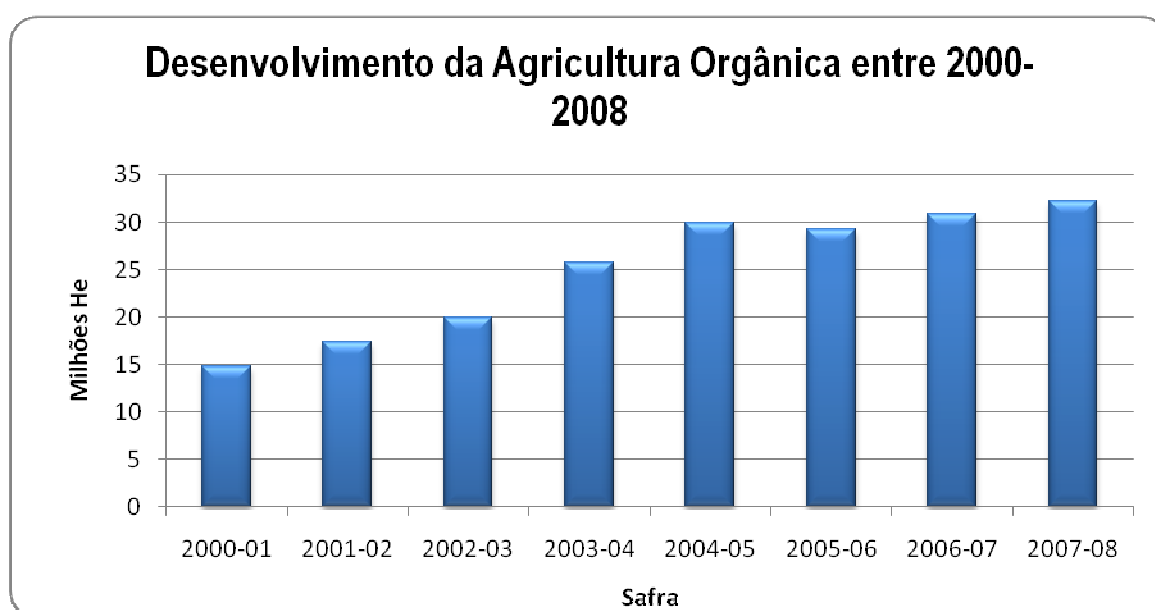


Figura 1 – Desenvolvimento da Agricultura Orgânica Mundial nos anos de 2000 a 2008

Fonte: WILLER e KLICHER (2009)

A agricultura orgânica no mundo está se desenvolvendo rapidamente, sendo praticada em mais de 130 países. O IFOAM (*International Federation of Organic Agriculture Movements*) ou Federação Internacional de Movimentos de Agricultura Orgânica é uma entidade que desde o ano de 2000 publica anualmente uma estatística mundial referente a produção orgânica. Segundo dados recentes publicados pela IFOAM no estudo “*The world of organic agriculture: 2009*” a área



com produtos orgânicos no mundo é de mais de 32,2 milhões de hectares em mais de 1,2 milhões de propriedades convertidas ao cultivo. Comparando com os dados de 2006, houve um incremento de mais de 1,5 milhões de hectares, sendo que a América Latina contribuiu com 28% desse incremento, conforme visualizado na Figura 1 (WILLER e YUSSEFI, 2006; WILLER e KLICHER, 2009).

Segundo Willer e Klicher (2009), a Oceania possui 38% da área cultivada (12,1 milhões de ha) com apenas 7222 produtores, mostrando a existência de grandes propriedades, principalmente na Austrália onde a pecuária predomina. A Europa cultiva cerca de 24% do total da área no mundo e possui 16,6% do número de produtores (200 mil). Comparando com dados de 2006, houve um incremento na Europa na produção orgânica de mais de 0,3 milhão de hectares. A América Latina aparece com participação de 20% da área mundial (6,4 milhões de ha) e 18,3% do número de propriedades agrícolas (220 mil), sendo a Argentina o maior produtor da América Latina com cerca de 44% da área cultivada, seguido do Brasil com 28%. A produção orgânica na Ásia é de 2,9 milhões de hectares representando 9% da produção mundial, destacando-se a produção na China e Índia. Ocupando o 5º lugar no ranking de produção orgânica encontra-se a América do Norte, com 7% da área orgânica mundial (2,2 milhões de ha), onde destaca-se a produção dos Estados Unidos sendo responsável por mais de 70% da produção. A África, com 0,9 milhão de hectares orgânicos representa apenas 2% da produção mundial (WILLER e KLICHER, 2009).

## 2.5 AGRICULTURA ORGÂNICA NO BRASIL

As informações sobre a produção da agricultura orgânica no Brasil são ainda relativamente escassas, encontrando-se dispersas nos arquivos de organizações certificadoras, associações de agricultores e Organizações não governamentais (ONGs). Não existe controle sistemático dos dados por parte de nenhum órgão federal. Em alguns estados esse controle está se iniciando, através das secretarias estaduais de agricultura, com destaque para o Estado do Paraná, que há seis anos realiza anualmente esse levantamento, embora, como já se evidenciou, as informações sejam ainda escassas e necessitem de uma metodologia mais apurada de coleta e tratamento de dados.

No entanto, se analisarmos as estatísticas referentes à agricultura orgânica mundial, disponibilizados pela IFOAM, em 2001 o Brasil possuía 275.576 hectares certificados. Em 2003, era 803 mil hectares e, em 2007, passou para 887 mil hectares (o triplo da área ocupada em 2001). Embora o Brasil ocupe o 6º lugar na área orgânica do mundo, detém apenas 0,3% da produção orgânica mundial. O número de produtores é estimado em cerca de 19 mil, sendo que 90% são pequenos produtores. O crescimento da produção orgânica é estimado crescer de 30% a 50% anualmente (WILLER e YUSSEFI, 2007).

A maior parte da produção orgânica brasileira (80%) encontra-se nos estados do Sul e Sudeste (BUAINAIN e BATALHA, 2007). Em torno de 85% da produção orgânica brasileira é exportada, sobretudo para a Europa, Estados Unidos e Japão. O restante (15%) é distribuído no mercado interno (DAROLT, 2002; CAMARGO FILHO et al., 2004).

Pelo menos 30 tipos de produtos orgânicos vêm sendo produzidos no País, sendo que os principais produtos brasileiros exportados são café (Minas Gerais); cacau (Bahia); soja, açúcar mascavo, erva-mate, café (Paraná); suco de laranja, açúcar mascavo e frutas secas (São Paulo); castanha de caju, azeite de dendê e frutas tropicais (Nordeste); óleo de palma e palmito (Pará); guaraná (Amazonas); arroz, soja e frutas cítricas (Rio Grande do Sul) e arroz (Santa Catarina) (CAMPANHOLA e VALARINI, 2001; CAMARGO FILHO et al., 2004). Do volume total de produtos orgânicos produzidos no Brasil, a soja representa 31%, as hortaliças 27% e o café 25% (ORMOND et al., 2002).

O Paraná se encontra entre os estados brasileiros onde mais cresce a produção agrícola orgânica, seguindo a tendência mundial de produção de alimentos em parceria com a natureza e na busca de alimentação cada vez saudável. Além dos benefícios econômicos evidentes desse crescimento, cita-se o fator de conservação das características naturais dos solos paranaenses, auxiliando a prolongar a capacidade produtiva das áreas reservadas para esse tipo de lavoura. Outro benefício indiscutível encontra-se no fato da agricultura orgânica auxiliar, de forma expressiva, a evitar não só a contaminação das águas do Estado por agrotóxicos, como diminuir em muito os processos de assoreamento de rios e ribeirões, causados pela erosão do solo pela prática predatória da agricultura convencional (CAMPOS, 2005; LUNARDON, 2009).

No Paraná, a agricultura orgânica é desenvolvida predominantemente em pequenas propriedades e de caráter familiar. Segundo Darolt (2000) na safra de 1998-1999 o estado do Paraná possuía 1200 produtores certificados. Com base nos últimos dados, o Estado vem se destacando em número de produtores contando atualmente com mais de 5300 agricultores certificados (LUNARDON, 2009).

Outra característica da atividade no Paraná é o nível de organização, com as inúmeras ONGs que trabalham no setor e estão reunidas em um Fórum Estadual. Além disso, em 2007, foi instituída a Câmara Setorial de Agricultura Orgânica do Paraná, que de forma paritária congrega entidades governamentais e da sociedade civil organizada, que de forma comum, discutem e buscam soluções aos chamados gargalos que dificultam o desenvolvimento da agricultura orgânica no Estado (LUNARDON, 2009).

A área total explorada no Estado está próxima de 12.000 hectares e as principais regiões produtoras, são: Curitiba, Paranaguá, União da Vitória, Guarapuava, Francisco Beltrão, Cascavel, Toledo, Londrina, Ivaiporã, Maringá, Apucarana, Campo Mourão, Santo Antônio da Platina e Cornélio Procopio (HAMERSCHMIDT, 2005; IPARDES, 2007).

Dados do SEAB e EMATER, referentes à safra de 2004-2005 o Estado do Paraná produziu cerca de 78 mil toneladas de produtos orgânicos, destacando a produção de mandioca (26,6% da produção), hortaliças (18,8%), açúcar mascavo (16,8%), frutas (10,3%), cana de açúcar/cachaça (8,5%) e soja (7,4%). Em termo de produtividade as hortaliças ocupam o 2º lugar, no entanto apresenta o maior número de produtores envolvidos, tendo sido crescente em termos de área (19,5%). O mercado interno absorve a totalidade da produção, seja através da venda *in natura* diretamente pelos produtores (feiras) ou por meio de empresas que fazem o processamento mínimo (supermercados) (IPARDES, 2007).

De acordo com o último levantamento realizado por técnicos do Departamento de Economia Rural da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB), e do Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater), na safra 2005/2006, o Paraná produziu 94 mil toneladas de produtos orgânicos, um aumento de 21% em relação à safra anterior. Segundo esses pesquisadores a expectativa é obter um crescimento de 15% a 20% na agricultura orgânica no Estado, em 2009 (SARAIVA, 2008)

A regionalização da produção orgânica no Paraná foi ordenada segundo cinco grandes regiões: Metropolitana e Litoral, Oeste, Sudoeste, Norte e Nordeste e Centro-Sul.

Destaca-se a produção de hortaliças na Região Metropolitana de Curitiba (RMC). As áreas de cultivo concentram-se nos municípios do entorno de Curitiba, conhecido como cinturão verde da metrópole. A participação desse grupo representa mais de 60% da produção estadual e é produzida por mais de 400 agricultores familiares. Do mesmo modo, é significativa a produção de frutas, a qual, entretanto, está mais concentrada no litoral, representando 58% do total no Estado, sendo o cultivo da banana a produção de maior destaque de frutífera. Praticamente toda a produção da grande região é comercializada na cidade de Curitiba. O mercado da venda direta é bastante expressivo, principalmente através das feiras orgânicas, com produtos *in natura* e alguns produtos beneficiados e minimamente processados (IPARDES, 2007).

Na Região Metropolitana de Curitiba, apenas 0,3% do número total de agricultores da região são orgânicos, apesar disso, esse número tende a aumentar rapidamente. Algumas vantagens comparativas e competitivas podem favorecer a implantação e desenvolvimento da agricultura orgânica nas regiões metropolitanas, como é o caso de Curitiba. Entre elas, destaca-se a necessidade de preservação de áreas de mananciais e de proteção ambiental, não indicadas para uma agricultura de altos insumos; as condições geográficas dos municípios, que estão estrategicamente situados em relação à capital; a infra-estrutura com boas redes de comunicação e transportes, o que favorece o abastecimento e a rápida comercialização; a organização associativa dos agricultores; e, finalmente, a proximidade do centro consumidor, onde a demanda em ascensão supera a oferta de produtos orgânicos (DAROLT, 2000).

Segundo Darolt (2000) dois fatores motivaram os agricultores da RMC no momento de decidir pela produção orgânica: a saúde pessoal e da família e a questão econômica.

Grande parte dos agricultores orgânicos do Paraná está ligado a algum tipo de organização, tal como a ASSESOAR (Associação de Estudos, Orientação e Assistência Rural, Francisco Beltrão), que registra o maior número de produtores orgânicos do Paraná (702); RURECO (Fundação para o Desenvolvimento Econômico e Rural do Centro Oeste do Paraná) com 430 produtores; AOPA

(Associação de Agricultura Orgânica do Paraná, Região Metropolitana de Curitiba) com 376 produtores; AS-PTA (Assessoria de Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, União da Vitória) com 248 produtores; Pólo de Agroecologia no litoral com 278 produtores e APOL (Associação de Produtores Orgânicos de Londrina) com 34 produtores (CAMPOS, 2005).

Segundo a Associação de Agricultura Orgânica, apenas 10% de um total de 320 associados são agricultores orgânicos desde que começaram a atividade de produção agropecuária. Isso mostra que há um enorme contingente de agricultores convencionais migrando para esse tipo de atividade, principalmente devido ao diferencial de preços de produtos orgânicos praticado no mercado. O perfil de muitos desses “novos” agricultores orgânicos é tecnocêntrico, ou seja, eles não têm nenhuma ideologia nem tampouco preocupação com a sustentabilidade, buscam apenas se adaptar às regras da produção orgânica para tirar vantagens financeiras dessa oportunidade visando ao lucro imediato. Essa avalanche de novos interessados põe em risco o espaço que estava ocupado pelos pequenos produtores e que poderia ser ampliado dentro desse grupo (CAMPANHOLA e VALARINI, 2001).

As vantagens da prática da agricultura orgânica pelo pequeno agricultor, segundo Campanhola e Valarini (2001) são:

a) viável em pequenas áreas e permite produção em pequena escala. Mesmo que a quantidade produzida por agricultor seja pequena, a comercialização de alimentos orgânicos diretamente aos consumidores é possível, quer seja por meio da distribuição em residências, quer seja pela venda em feiras livres especializadas (feiras de produtores orgânicos).

b) favorece a diversificação produtiva no estabelecimento. Devido ao contato estabelecido entre produtor e consumidor nas vendas diretas, muitas demandas identificadas por certos produtos levam os agricultores a diversificarem naturalmente a sua produção no espaço e no tempo.

c) exige mais mão-de-obra, gerando empregos. Ao contrário do processo de modernização da agricultura, a agricultura orgânica precisa de mais mão-de-obra por unidade de área. Outra possibilidade é o aproveitamento da própria mão-de-obra familiar excedente

d) menor dependência de insumos externos. O grau de dependência externa de insumos pode ser diminuído na medida que se utilize melhor os recursos

disponíveis na propriedade, tais como: compostagem ou reciclagem de material orgânico vegetal e animal gerado no próprio estabelecimento, tração animal, energia não-fóssil, banco de sementes, e assim por diante.

e) eliminação do uso de agrotóxicos. Com a diversificação produtiva e a aplicação dos princípios agroecológicos, que incluem a manutenção da quantidade e qualidade nutricionais adequadas nas plantas e animais, a ação dos inimigos naturais de pragas e fitopatógenos e o uso do manejo integrado, é possível produzir sem o uso de agrotóxicos. Por sua vez, a eliminação de seu uso contribui para a redução dos custos de produção e dos desequilíbrios biológicos causados nos agroecossistemas.

f) maior biodiversidade nos solos. Mäder et al. (1997) avaliaram diferentes sistemas de produção por mais de uma década e concluíram que o sistema orgânico mostrou a mais alta reserva de matéria orgânica ativa, que é caracterizada por alta biomassa microbiana e elevadas taxas de atividades enzimáticas (desidrogenase, fosfatase alcalina, protease e catalase) no solo, o que representa um potencial maior para as transformações de nutrientes no solo.

g) maior valor comercial do produto orgânico em relação ao convencional.

h) maior vida útil dos produtos no período pós-colheita.

## 2.6 CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS ORGÂNICOS

A agricultura orgânica vem paulatinamente sensibilizando os governos a adotarem legislações específicas para a certificação de produtos orgânicos. No entanto, o Estado deveria ser responsável pela fiscalização eficaz, de modo a evitar o desrespeito às regras de produção estabelecidas, mas o que se observa hoje é uma tendência de “delegação de poderes” no que tange a regulamentação da produção orgânica. Nesse cenário surge as certificadoras, responsáveis pelo controle e pela efetivação das normas de produção orgânica (STRINGHETA, 2003).

No caso brasileiro, o Ministério da Agricultura e do Abastecimento estabeleceu, através da Instrução Normativa (IN) 007, de 17 de maio de 1999, *"as normas de produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e de certificação da qualidade para os produtos orgânicos de origem vegetal e animal"* (BRASIL, 2004). Segundo a IN- 007/99, *"os produtos de origem vegetal ou animal, processados ou in natura, para serem reconhecidos como orgânicos devem*

*ser certificados por pessoa jurídica, sem fins lucrativos, com sede no território nacional, credenciada no Órgão Colegiado Nacional (...)*". A denominação "produto orgânico" deverá ser mencionada no rótulo e deve constar da embalagem um "selo de qualidade" da entidade certificadora credenciada (BRASIL, 1999).

De acordo com a Lei 10.831 de 23 dezembro de 2003, considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (BRASIL, 2003).

Com base nessa mesma legislação, um sistema de produção orgânico tem como finalidades:

- a) oferta de produtos saudáveis isentos de contaminantes intencionais;
- b) preservação da diversidade biológica dos ecossistemas naturais e a recomposição ou incremento da diversidade biológica dos ecossistemas modificados em que se insere o sistema de produção;
- c) incrementar a atividade biológica do solo;
- d) promover um uso saudável do solo, da água e do ar, e reduzir ao mínimo todas as formas de contaminação desses elementos que possam resultar das práticas agrícolas;
- e) manter ou incrementar a fertilidade do solo a longo prazo;
- f) reciclagem de resíduos de origem orgânica, reduzindo ao mínimo o emprego de recursos não-renováveis;
- g) basear-se em recursos renováveis e em sistemas agrícolas organizados localmente;
- h) incentivar a integração entre os diferentes segmentos da cadeia produtiva e de consumo de produtos orgânicos e a regionalização da produção e comércio desses produtos;

- i) manipular os produtos agrícolas com base no uso de métodos de elaboração cuidadosos, com o propósito de manter a integridade orgânica e as qualidades vitais do produto em todas as etapas.

A certificação de produtos orgânicos visa conquistar maior credibilidade dos consumidores e conferir maior transparência às práticas e aos princípios utilizados na produção orgânica. A certificação é outorgada por diferentes instituições no país, as quais possuem normas específicas para a concessão do seu selo de garantia (CAMPANHOLA e VALARINI, 2001; GIORDANO e KRUGLIANSKAS, 2004). Não há, segundo a FAO, uma regulamentação sobre produtos orgânicos que possa ser aplicada mundialmente. As percepções de como se definir e certificar produtos orgânicos, em diferentes associações, países e indústrias, podem diferir muito entre si. Dessa forma, produtos orgânicos de marcas diferentes podem ter padrões bastante diferenciados para definir um mesmo produto (FAO, 2004).

No caso de produtos destinados à exportação, é preciso que a entidade certificadora seja devidamente registrada junto à Federação Internacional dos Movimentos de Agricultura Orgânica - IFOAM (*International Federation of Organic Agriculture Movements*) (SEVERINO, 2000). Os exemplos de órgãos certificadores no Brasil são: Instituto Biodinâmico (IBD), avaliado pela IFOAM e cujo selo é aceito em mercados internacionais e a Associação de Agricultura Orgânica (AAO), cujo selo é aceito apenas nacionalmente, mas existem outras certificadoras no Brasil (GIORDANO e KRUGLIANSKAS, 2004).

Fundamentalmente, o sistema de certificação julga se um processo de produção está em conformidade com as regras estabelecidas pela normalização. Para a produção orgânica esta normalização proíbe, por exemplo, a utilização de adubos e de produtos fitossanitários de síntese, de organismos geneticamente modificados ou de radiações ionizantes. Não há, a princípio, a análise intrínseca da qualidade dos produtos, ou a chamada obrigação de resultados (WILSON, 2001).

O passo seguinte à certificação é a auditoria. Ou seja, após a realização da certificação os agentes serão auditados a cada período de tempo (em geral a cada seis meses). Esta auditoria pode ser realizada por delegação do certificador ou pela própria certificadora. São feitas *in loco*, por auditores que seguem um roteiro determinado de atuação. Na produção rural as verificações englobam as operações de campo, as instalações, todos os insumos e os registros realizados. Assim, o



processo é feito de forma contínua ao longo do tempo por meio de um sistema permanente de auditoria (GIORDANO e KRUGLIANSKAS, 2004).

Os custos de emissão do certificado orgânico, no caso das certificadoras nacionais, variam de 0,5% a 2% do valor faturado para a mercadoria e cobram-se tantas vezes quantas sejam as remessas de produto que necessitem de certificação, no caso de exportação. Para o mercado interno, o valor é cobrado pelo total de produto certificado vendido pela empresa, não sendo necessário emitir certificados específicos para cada carga. No caso das certificadoras internacionais, os custos de certificação são um pouco maiores, variando entre 2% e 5% do faturamento (CAMARGO FILHO et al., 2004).

## 2.7 COMERCIALIZAÇÃO DOS PRODUTOS ORGÂNICOS

Essa etapa da cadeia produtiva pode parecer simples, mas tem sido o maior entrave em várias experiências de produção orgânica. O produto precisa estar disponível na hora em que o consumidor tem tempo de ir comprá-lo e que o ponto de distribuição seja facilmente acessível.

Segundo Lima e Pinheiro (2001) o início da comercialização de orgânicos é muito diversificada. Inúmeros agricultores começam produzindo apenas para auto consumo e em seguida passam a vender para seus vizinhos e nas sedes dos distritos. Quando a escala de produção cresce, esses agricultores se organizam para colocar seus produtos nos mercados das cidades mais próximas. Surgem então as feiras ecológicas, feiras orgânicas ou espaços agroecológicos nas principais capitais brasileiras e em muitas outras cidades de variados portes, onde os próprios agricultores e agricultoras, organizados, vendem seus produtos.

De maneira geral, pode-se dizer que a comercialização de produtos orgânicos é feita por diferentes mecanismos, dentre os quais distinguem-se dois grupos. No primeiro grupo situam-se as vendas no varejo que consistem de: venda via entrega em domicílios, venda direta em feiras livres e em pontos de venda especializados (feiras dos produtores), venda direta a lojas de produtos naturais, restaurantes, lanchonetes e fast-foods, e venda direta a mercados institucionais públicos e privados, como por exemplo, aos restaurantes das empresas e às escolas para o preparo de merenda escolar. No segundo grupo estão as vendas no atacado, que

consistem da entrega de produtos as distribuidoras de produtos orgânicos e a redes de supermercados (CAMPANHOLA e VALARINI, 2001).

## 2.8 DIFICULDADES DO MERCADO DE ORGÂNICOS

O principal argumento utilizado contra a agricultura orgânica é que se toda a área agrícola fosse convertida a esse método, não seria possível produzir alimento suficiente para a população mundial. A afirmação tem fundamentos, mas deve ser entendida como necessidade de aperfeiçoamento de técnicas que permitam a produção agrícola aliada à preservação ambiental e não como definitiva inviabilidade da produção orgânica (SEVERINO, 2000).

Os principais entraves para o crescimento da atividade não estão ligados diretamente à produção, mas a outros elos da cadeia produtiva, ou seja, apesar das limitações quanto a assistência técnica, tecnologia apropriada e mesmo adequação de custos, não é a dificuldade de produzir que está limitando o crescimento da atividade, mas sim dificuldades de distribuição, comercialização e, por vezes, a certificação (SEVERINO, 2000).

De acordo com Dulley, Souza e Novoa (2000): *“o maior problema do mercado de orgânicos não é mais a falta de demanda por produtos, mas sim a impossibilidade de ofertar um mix de produto de qualidade, quantidade e periodicidade demandada pelos supermercados”*.

A irregularidade de oferta, devido ao planejamento inadequado, produção dispersa e pequena quantidade de produtores, também é apontado por Severino (2000) como um dos problemas do mercado de orgânicos.

Outro grande entrave para o crescimento da atividade é o processo de conversão de agricultura tradicional para orgânica porque os agrotóxicos que haviam sido utilizados na propriedade permanecem como resíduos no solo e nas plantas. Por isso, para que haja produção orgânica, exige-se um programa de conversão que pode durar até dois anos. Durante esse período, a produção ainda não pode ser vendida como orgânica, mas tem custo de produção superior à agricultura tradicional, o que desestimula muitos produtores que não estão capitalizados o suficiente para atravessar essa fase (SEVERINO, 2000).

Ainda são muitos os entraves encontrados pelo produtor orgânico brasileiro, constituindo barreiras à entrada nesse mercado. A Instrução Normativa 007/99

define os critérios para conversão do solo manejado de forma convencional para solo orgânico. O período mínimo de conversão estabelecido de acordo com a produção é:

- 12 meses: hortaliças, culturas anuais e pastagens;
- 18 meses: culturas perenes (BRASIL, 2003).

O produto gerado durante o processo de conversão não pode ser comercializado como orgânico, podendo apenas ser designado como tal após terminado o período de conversão e finalizada a análise dos resultados e , então, acatadas as recomendações das certificadoras.

O principal problema consiste na ausência de linhas de crédito voltadas para conversão, bem como os custos com a certificação, o que por sua vez contribui para os preços geralmente mais elevados dos produtos orgânicos encontrados no mercado. As dificuldades são ainda maiores para os pequenos produtores que, na ausência de capital de giro para realizar esse empreendimento, não conseguem ingressar no setor (MACHADO e CORAZZA, 2004).

A alternativa mais utilizada para o crédito agrícola brasileiro tem sido, então, através do crédito destinado à Proteção Ambiental, como os financiamentos do Banco do Brasil e do Banco do Nordeste (MACHADO e CORAZZA, 2004).

## 2.9 SEGURANÇA ALIMENTAR

Na sociedade atual, a incorporação de novos hábitos tais como a busca por alimentos frescos, pouco calóricos, mais nutritivos, saborosos e de alta qualidade são fundamentais para facilitar e tornar mais prática e saudável a vida das pessoas. Esses e outros fatores explicam o crescente consumo de frutas e verduras, pois os consumidores estão cada vez mais conscientes da relação entre a dieta e a prevenção de doenças e dessa forma vêm modificando seus hábitos alimentares (ROSA , MARTINS e FOLLY, 2005; OKURA , MARIANO e TEIXEIRA, 2006).

No entanto, a população em geral não possui com clareza informações sobre a segurança e qualidade dos alimentos, e isto é particularmente verdade quando patógenos microbiológicos e parasitários estão envolvidos. Esses patógenos não são facilmente detectados no processo produtivo, e seus efeitos na saúde do consumidor são, na maioria das vezes, de difícil identificação após o consumo, por

se tratar de sintomas relacionados a muitas doenças, tais como diarreia, mal estar, cólicas, com ou sem febre (REZENDE e FARINA, 2001; SILVA JR., 2007).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a segurança alimentar deve assegurar que toda a população disponha de acesso físico e econômico a alimentos inócuos (isentos de patógenos e outros perigos físicos ou químicos) e nutritivos, que permitam manter uma vida sadia, ativa e plenamente produtiva (OPAS/OMS, 2001). No Brasil o atual conceito foi elaborado em julho de 1994 na I Conferência Nacional de Segurança Alimentar. Um dos eixos contempla o acesso à alimentação, garantindo acesso à terra e condições para nela produzir, apoio à agricultura familiar, garantia de renda mínima, garantia da qualidade biológica, sanitária, nutricional e tecnológica dos alimentos e seu aproveitamento, estimulando práticas alimentares e estilos de vida saudáveis (CGPAN, 2005).

A possível presença de microorganismos e enteroparasitas nas hortaliças se deve ao fato das mesmas necessitarem de um ambiente permanentemente úmido, o que requer a prática de irrigação constante, especialmente nos meses de seca. Essas condições associadas a arquitetura das folhagens propiciam a formação de ambientes extremamente favoráveis (umidade elevada e luminosidade baixa) a sobrevivência e ao desenvolvimento das formas de transmissão desses contaminantes (FILGUEIRA, 2005; MONTANHER, CORADIN e SILVA, 2007).

Segundo Montanher, Coradin e Silva (2007), os microorganismos patogênicos e deterioradores podem contaminar os produtos de origem vegetal por fontes diversas, e essa contaminação inicia-se na fase de produção, quando há o contato com solo, água, fezes de animais, insetos e manipuladores. Portanto, as hortaliças, em especial as consumidas cruas, podem conter larvas e ovos de helmintos e cistos de protozoários, bactérias deteriorantes e patogênicas (SOARES e CANTOS, 2006).

Um estudo avaliando a ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na Região Metropolitana de São Paulo revelou que todas as variedades de hortaliças analisadas apresentaram elevado percentual de contaminação por helmintos. Segundo os autores, os valores encontrados refletem as condições e práticas de cultivo inadequadas do ponto de vista higiênico-sanitário (OLIVEIRA e GERMANO, 1992a; 1992b). No Paraná, Garcia et al. (2004) avaliaram amostras de hortaliças de Umuarama-PR e observaram *Ascaris* sp., ancilostomatídeos *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides* sp, *Entamoeba* sp e *Giardia* sp em amostras de alface crespa, alface lisa e chicória. Da mesma forma,

Guilherme et al. (1999) encontraram altos índices de contaminação em amostras de alface lisa, alface crespa, alface mimosa, rúcula, agrião e escarola no município de Maringá-PR.

As hortaliças cruas são comumente associadas à presença de várias espécies de microorganismos, entre os quais estão a bactéria *Escherichia coli*, *Salmonella* e os coliformes, esses são indicadores de condições de higiene inadequadas durante o cultivo, processamento, embalagem e transporte das hortaliças (NASCIMENTO et al, 2005; ROCHA , MENDES e BARBOSA, 2008).

O interesse por produtos oriundos da agricultura orgânica vem crescendo intensamente. Consequentemente, o consumidor tem uma possibilidade de escolha ampliada nos pontos de venda das grandes cidades, podendo optar pelo produto orgânico, hidropônico ou convencional. No entanto, a não ser pelas diferenças práticas entre os três tipos de cultivo, o consumidor não possui dados indicativos sobre a qualidade das hortaliças oriundas dos diferentes cultivos (MIYAZAWA , KHATOUNIAN e ODENATH, 2001).

Todos os alimentos devem ser produzidos seguindo práticas que resultem em produtos seguros para serem consumidos. Esta premissa é verdadeira tanto para o sistema orgânico de produção, como para o convencional. No entanto, algumas questões têm sido levantadas a respeito da possibilidade de um risco aumentado de contaminação microbiológica nos alimentos produzidos no sistema orgânico, em virtude principalmente do tipo de adubação (SCHMIDT , GREY e BRENDDEL, 1996; STEPHENSON, 1997).

Stephenson (1997) sugere que algumas práticas do sistema orgânico, tais como o uso de esterco animal e a proibição do uso de agrotóxicos possam aumentar o risco de uma contaminação microbiológica e desse modo, tornar o alimento não adequado ao consumo. Contudo, Schmidt et al. (1996) sugerem que contaminação microbiológica dependerá principalmente das práticas de produção adotadas na propriedade e das condições ambientais. Portanto, tanto os alimentos orgânicos como os convencionais estariam sujeitos ao mesmo nível de risco. Além disso, um alimento para ser comercializado como orgânico passa frequentemente por uma série de procedimentos exigidos pela certificadora, as quais não permitem que o esterco animal seja utilizado antes da sua correta compostagem.

Em um trabalho desenvolvido na Embrapa Agrobiologia não foram identificadas diferenças estatísticas em relação a contaminação microbiológica nas

amostras de alface em decorrência do sistema de produção adotado, mas foram detectadas diferenças na qualidade microbiológica das alfaces em relação ao pontos de comercialização em que as mesmas foram coletadas (ALVES , NEVES e COSTA, 2007).

Alguns trabalhos relatam que alimentos produzidos sob sistema orgânico poderiam ter uma carga microbiana e parasitológica superior a outros tipos de cultivo, por não utilizarem pesticidas e agrotóxicos (ERDOGRUL e SENER, 2005; NGUZ et al., 2005). No entanto o que se verifica nos trabalhos publicados é que independente do tipo de cultivo, as hortaliças são altamente suscetíveis a contaminações microbiológicas e parasitológicas, uma vez que durante o cultivo, o vegetal permanece em contato com o solo, o qual, muitas vezes recebe adubos orgânicos constituído de fezes provenientes de diversos animais (PAULA et al., 2003; TAKAYANAGUI et al., 2006; ALVES , NEVES e COSTA, 2007; LOTTO e VALARINI, 2007). Outro fator que acarreta em contaminações é a irrigação das hortaliças através da utilização das águas provenientes de rios, córregos e lagos adjacentes às hortas, sem nenhum tratamento prévio (GUILHERME et al., 1999).

Como a qualidade e a segurança das hortaliças frescas dependem de vários fatores, cada etapa percorrida entre o produtor e o consumo final influencia nos aspectos sanitários do produto. Manuseio, armazenamento, transporte e comercialização incorretos podem comprometer a qualidade e segurança do produto através do aumento da população de microrganismos e parasitas, evidenciando que o tipo de cultivo não pode ser visto como o principal fator contribuinte para a qualidade sanitária dos alimentos.

A segurança dos alimentos produzidos no sistema orgânico ainda permanece controversa para muitos consumidores e pesquisadores, devido a falta de dados científicos conclusivos. Para tanto, o desenvolvimento de pesquisas abordando os aspectos sanitários poderão trazer dados que permitam se fazer uma avaliação da segurança desses alimentos.

## 2.10 COMPARAÇÕES ENTRE O SISTEMA DE PRODUÇÃO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

Muitos pesquisadores relatam que frutas e hortaliças orgânicas diferem das convencionais em suas características sensoriais e nutricionais. No entanto não existe um consenso sobre a superioridade dos orgânicos, devido principalmente, a insuficiência de estudos com um bom controle de variáveis.

Segundo Bourn e Prescott (2002), para se fazer uma comparação válida dos sistemas de produção é necessário levar em conta a perspectiva da qualidade do alimento e o significado de qualidade, no contexto dos sistemas de produção agrícola. Em seu livro, Lampkin (1990) relata que o aumento da aplicação de fertilizantes nitrogenados no solo resulta em altos níveis de nitrato, oxalatos e outros compostos indesejáveis, assim como menor teor da vitamina C nos alimentos cultivados nesses solos. Os conteúdos de cálcio, fósforo, magnésio e sódio dos alimentos também foram afetados.

Os dados sobre a composição química dos frutos são bastante variáveis, em decorrência dos numerosos condicionantes tais como: as diferenças entre cultivares, grau de maturidade do produto, estação de colheita, local e clima. Significativas perda de nutrientes, especialmente vitamina C, podem ocorrer devido ao armazenamento inadequado ou por longos períodos, contribuindo também para a variação na composição dos frutos (CHITARRA, 1994).

Concomitantemente, Darolt (2003) afirma existir uma grande número de fatores que pode afetar a qualidade de um alimento, como fatores genéticos (variedades), clima, condições de solo, armazenamento pós colheita e modo de produção (orgânico ou convencional). Nesse sentido, a probabilidade de se conseguir um resultado de pesquisas mais confiável, na comparação entre orgânicos e convencionais, aumenta quando um maior número de variáveis é monitorado.

Uma série de fatores podem ser investigadas nos estudos que estabelecem uma comparação entre os alimentos provenientes de cultivo orgânico e convencional. Dentre eles, os mais comumente pesquisado são os fatores econômicos, o rendimento da produção, os fatores agronômicos, a qualidade do produto (valor nutricional, características organolépticas, vida de prateleira) e as condições ambientais (BOURN e PRESCOTT, 2002; WILLIAMS, 2002; MAGKOS ,

ARVANITI e ZAMPELAS, 2003; DIMBERG , GISSEN e NILSSON, 2005; HAJSLOVA et al., 2005; MAGKOS , ARVANITI e ZAMPELAS, 2006).

Bourn e Prescott (2002) relatam que os estudos disponíveis se concentram em quatro tipos básicos de comparação: 1) a análise química de alimento orgânico e convencional adquiridos no comércio; 2) o efeito da fertilização na qualidade nutricional das culturas; 3) a análise dos alimentos orgânicos e convencionais provenientes de propriedades conduzidas orgânica e convencionalmente e 4) o efeito da ingestão dos alimentos orgânicos e convencionais sobre a saúde humana ou animal.

Segundo os mesmos autores, com exceção do conteúdo de nitratos e teor de matéria seca superiores, não há nenhuma evidência forte que alimentos orgânicos e convencionais diferem significativamente em concentrações da maioria dos nutrientes pesquisados.

O que se observa, de forma geral, é uma tendência à redução do teor de nitratos e ao aumento no teor de vitamina C de alimentos produzidos organicamente (WILLIAMS, 2002).

Por conseguinte, deve-se ter muita cautela ao interpretar os resultados referentes ao valor nutricional dos alimentos, face aos inúmeros interferentes.

Smith (2003) analisou o teor de minerais de maçãs, peras, batata e milho de cultivo convencional e orgânico e verificou um aumento nas concentrações de diversos minerais nas amostras orgânicas, bem como teor inferior de alumínio, chumbo e mercúrio. O estudo sugere que existem diferenças significativas, quando se estabelece a comparação entre a composição dos alimentos orgânicos e convencionais, no que diz respeito a nutrientes e contaminantes minerais. No entanto, o delineamento do estudo impede que os resultados sejam conclusivos, pois, aparentemente, não foi atribuída a devida atenção para verificar se os produtos rotulados como orgânicos eram de fato provenientes de um sistema orgânico de produção. Acrescenta-se, também, o fato de que não foram descritos detalhes sobre o sistema de amostragem.

Na Alemanha, um grupo de pesquisadores propôs avaliar o efeito da fertilização convencional de alta solubilidade contendo NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) e adubação orgânica no cultivo de espinafre, batata, cenoura e repolho. Após 12 anos de acompanhamento, verificaram que nos alimentos cultivados com a aplicação da adubação orgânica houve acréscimos de matéria seca (23%), proteína



(18%), vitamina C (28%), açúcares totais (19%), metionina (23%), ferro (77%), potássio (18%), cálcio (10%) e fósforo (13%). Inversamente, verificou-se o decréscimo do sódio (12%) e do nitrato (93%).

No que se concerne às substâncias que poderiam ter uma função de proteção à saúde, como é o caso dos compostos fenólicos, a maioria dos estudos realizados mostra um teor mais elevado nos alimentos orgânicos (DUCASSE-COURNAC , LECLERC e TAUPIER-LETAGE, 2001; REN , ENDO e HAYASHI, 2001; ARBOS, 2004).

O conteúdo de polifenóis em couve, repolho chinês, espinafre, alho e pimentão verde cultivados de forma orgânica e convencional foram avaliados por Ren et al. (2001). Os conteúdos dos orgânicos em flavonóides (quercetina) e ácido caféico foram de 1,3 a 10,4 vezes superiores aos encontrados nos convencionais, sugerindo assim a influência exercida por diferentes práticas de cultivo.

Houve diferença estatística no teor de vitamina C, carotenóides e polifenóis nas amostras de tomate orgânica em comparação as amostras convencionais (Caris-Veyrat et al, 2004). No Brasil, Borguini (2002) verificou que tomates provenientes de sistema orgânico de produção apresentaram teor de fenólicos totais e de ácido ascórbico superior ao tomate produzido por cultivo convencional.

Embora exista uma série de dados disponíveis sobre diferentes atributos dos alimentos produzidos no sistema orgânico e convencional, ainda assim, não é possível fazer uma comparação válida, devido a grande variabilidade de parâmetros que deveriam ser avaliados, conforme relatado anteriormente. Por essa razão, os estudos disponíveis apresentem resultados tão contraditórios.

## 2.11 OBJETIVOS

### 2.11.1 Objetivo Principal

Avaliar a qualidade microbiológica, parasitária e o valor nutricional de alface, tomate e cenoura de cultivo orgânico proveniente da Região Metropolitana de Curitiba.

### 2.11.2 Objetivos Específicos

- Analisar a qualidade microbiológica das hortaliças orgânicas selecionadas, mediante a contagem de coliformes totais e fecais (NMP/g) e pesquisa de *Salmonella* (presente/ausente);
- Pesquisar quantitativamente e qualitativamente a presença de larvas e parasitas;
- Determinar a composição nutricional (proteína, carboidratos, lipídios, fibra alimentar, umidade, cinzas, matéria seca, vitamina C), valor calórico e do pH;

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA DA PESQUISA PARA AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES SANITÁRIAS

Foram avaliadas 13 propriedades situadas na Região Metropolitana de Curitiba, especificamente no município de São José dos Pinhais e Colombo que utilizam o sistema orgânico de produção, onde foram coletadas amostras de alface americana, tomate e cenoura conforme descrição do Quadro 1.

**Quadro 1** – Amostras de hortaliças orgânicas coletadas na RMC

<b>Produtor</b>	<b>Amostra coletada</b>	<b>Classificação</b>	<b>Procedência</b>	<b>Data</b>
Produtor 1	Alface ( <i>Lactuca sativa</i> L., cultivar Robinson)	Grupo americana, classe 40	S.J.P	Junho/06
Produtor 2	Alface ( <i>Lactuca sativa</i> L., cultivar Robinson)	Grupo americana, classe 40	S.J.P	Junho/06
Produtor 3	Alface ( <i>Lactuca sativa</i> L., cultivar Robinson)	Grupo americana, classe 40	S.J.P	Junho/06
Produtor 4	Alface ( <i>Lactuca sativa</i> L., cultivar Robinson)	Grupo americana, classe 40	S.J.P	Junho/06
Produtor 5	Alface ( <i>Lactuca sativa</i> L., cultivar Robinson)	Grupo americana, classe 40	S.J.P	Junho/06
Produtor 6	Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., cultivar Santa Clara- estufa)	Grupo redondo, coloração vermelha.	S.J.P	Agosto/06
Produtor 7	Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., cultivar Santa Clara- estufa)	Grupo redondo, coloração vermelha	S.J.P	Agosto/06
Produtor 8	Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., cultivar Santa Clara- estufa)	Grupo redondo, coloração vermelha	S.J.P	Agosto/06
Produtor 9	Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., cultivar Santa Clara- estufa)	Grupo redondo, coloração vermelha	S.J.P	Agosto/06
Produtor 10	Cenoura ( <i>Daucus carota</i> L.)	Grupo Brasília, classe 18	S.J.P	Novembro/06
Produtor 11	Cenoura ( <i>Daucus carota</i> L.)	Grupo Brasília, classe 18	Colombo	Novembro/06
Produtor 12	Cenoura ( <i>Daucus carota</i> L.)	Grupo Brasília, classe 18	Colombo	Novembro/06
Produtor 13	Cenoura ( <i>Daucus carota</i> L.)	Grupo Brasília, classe 18	Colombo	Novembro/06

Nota: S.J.P = São José dos Pinhais

A seleção das amostras baseou-se nos seguintes critérios:

- a) Volume de produção expressivo na Região Metropolitana de Curitiba;
- b) Presença de no mínimo quatro produtores que utilizassem o sistema orgânico de produção;
- c) Culturas com os maiores índices de contaminação, segundo dados bibliográficos (AMAHMID, ASMAMA e BOUHOUM, 1999; CALDAS, 2002; PALU, TIBANA e TEIXEIRA, 2002; ERDOGRUL e SENER; OLIVEIRA et al, 2006; SANTANA et al., 2006)
- d) Culturas que permanece em contato com o solo, oferecendo condição para retenção e sobrevivência de microorganismos e parasitas; e,
- e) Consumo frequente na forma *in natura* (sem cocção).

Estabeleceu-se como unidade amostral para as alfaces, o pé; para as amostras de tomate e cenoura seis unidades, independentemente do peso ou tamanho que representavam. Desta forma, de cada produtor foram três unidades amostrais, ou seja, coletados três pés de alface, 18 unidades de tomate e 18 unidades de cenoura. As unidades amostrais foram coletadas ao acaso nas regiões da cabeceira, do centro e da fileira inferior dos canteiros.

As análises microbiológicas e parasitológicas foram conduzidas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, pertencente ao Centro de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (UNIDERP), Campo Grande-MS.

### **3.1.1 Coleta do Material**

A coleta das hortaliças foi realizada no período de junho a novembro de 2006. As hortaliças foram coletadas com luvas cirúrgicas e acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso, fechadas e etiquetadas (tipo de análise, procedência, data da coleta) e preservadas em caixas isotérmicas, contendo bolsas com gelo, a temperatura inferior a 10°C. As amostras coletadas e devidamente acondicionadas foram encaminhadas ao laboratório para o início das análises em prazo inferior a 36 horas.

Durante a coleta das amostras, foi preenchido um Formulário de Identificação da Propriedade (ANEXO1) contendo perguntas sobre a origem da água de irrigação, tipo de adubação utilizada, presença de animais domésticos, volume de produção, destino da produção, entre outras informações que pudessem contribuir para avaliação dos resultados obtidos.

### 3.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram fundamentadas na determinação do número mais provável, pela técnica de fermentação em tubos múltiplos de acordo com as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) (ABNT, 1991) e *American Public Health Association* (APHA, 1995). Foram realizadas as análises exigidas pela RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, ou seja contagem de coliformes termotolerantes a 45°C (coliformes fecais) e *Salmonella* sp (ANVISA, 2001). A pesquisa de *Salmonella* sp foi executada segundo metodologia preconizada pela *American Public Health Association* (APHA, 1992).

#### 3.2.1 Preparo das Amostras para Análises Microbiológicas

Cerca de 100 g da amostra coletada foi assepticamente pesada, excluindo partes deterioradas e talos, sendo transferidas 25 g para um frasco contendo 225 ml de caldo lactosado estéril para análise de *Salmonella* e 25 g para um frasco contendo 225 ml de solução salina peptona a 0,1% estéril para proceder a contagem de coliformes totais e fecais, obtendo-se desta forma a diluição  $10^{-1}$ . Dessa diluição ( $10^{-1}$ ) foram realizadas diluições subsequentes ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ).

#### 3.2.2 Técnica do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Fecais

Essa técnica consta de duas fases distintas: o teste presuntivo, onde se busca detectar a presença de microorganismos fermentadores de lactose e onde é possível recuperar células injuriadas; e o teste confirmativo, onde se determina a população real de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF) (APHA, 1995)

Para a prova presuntiva foram utilizados as diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ , sendo semeadas alíquotas de 1 ml em uma série de 3 tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (Figura 2). Incubou-se os tubos a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 h e verificou-se há crescimento dos microorganismos através da produção de gás nos tubos de Durham e/ou turvação do meio.

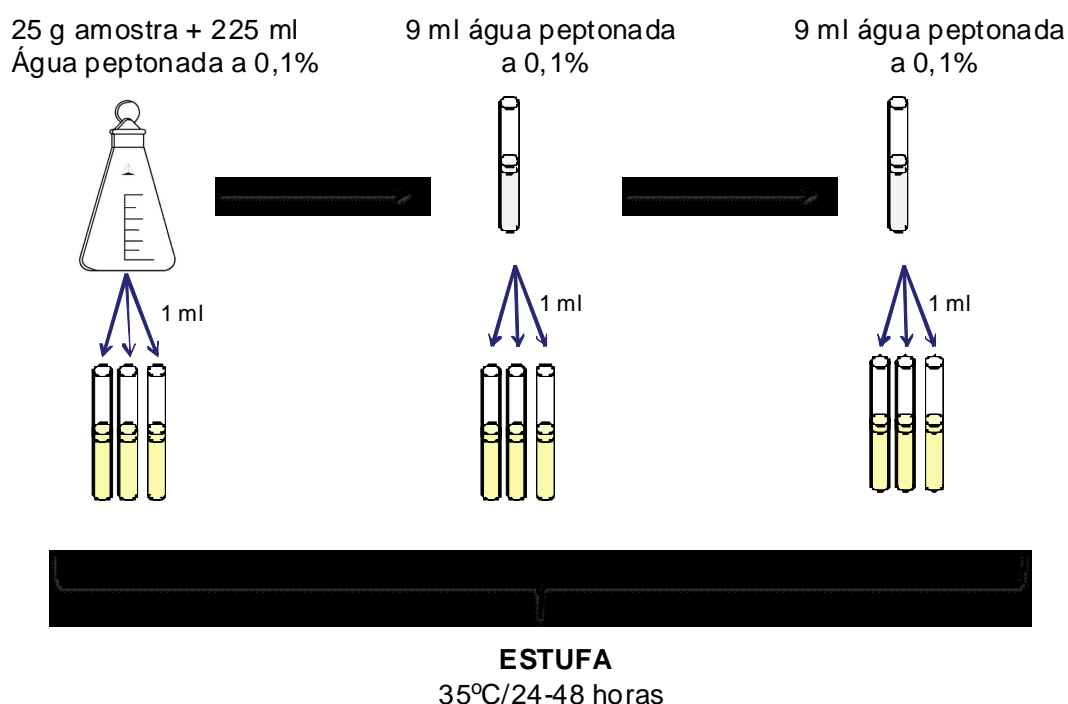


Figura 2 – Procedimento para prova presuntiva de coliformes pelo método do número mais provável

Dos tubos positivos, foi realizado o teste para a confirmação de CT. Para tanto, os tubos positivos do caldo LST foram repicados para três séries de três tubos contendo caldo Verde Brilhante Lactose Bile 2% (CVBLB), os quais foram incubados a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 h. Para a prova confirmatória de CF, foram repicados os tubos positivos do caldo LST para tubos contendo caldo *E. coli* (EC) incubando-se por  $45^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  por 24-48 h, em banho-maria com agitação. A presença de gás indicou a positividade do tubo para a presença de CF (Figura 3). O cálculo do NMP/g foi determinado com auxílio da tabela de NMP- séries de três tubos, conforme demonstrada no ANEXO 2 (ABNT, 1991).

Os resultados obtidos foram comparados com os padrões da legislação vigente, RDC 12/2001 (ANVISA, 2005).

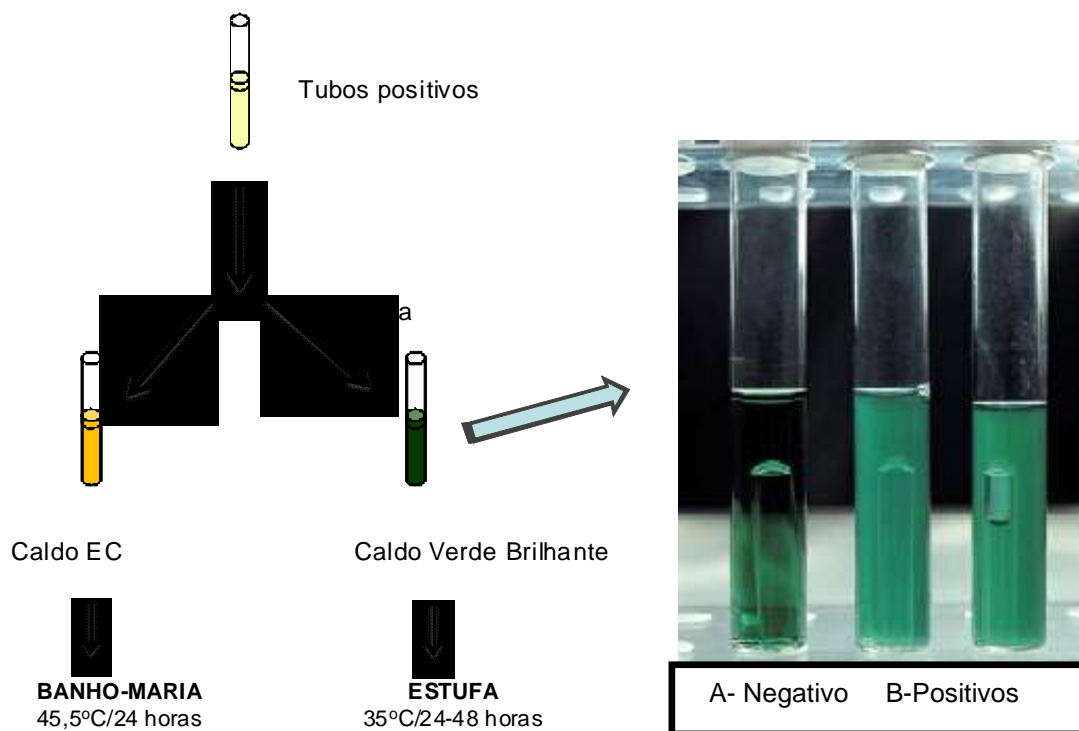


Figura 3 – Procedimento para prova confirmatória de coliformes pelo método do número mais provável

Nota:

A-Tubo com resultado negativo para coliformes fecais.

B-Tubos com resultado positivo para coliformes fecais, evidenciado pela turvação do meio de cultura e formação de gás no interior do tubo de Durham.

### 3.2.3 Detecção de *Salmonella* sp.

Para a determinação de *Salmonella*, utilizou-se o protocolo oficial proposto pela APHA (1992). Para tanto, em 25 g da amostra adicionou-se 225 ml de caldo lactosado. O homogeneizado foi incubado a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 18-20 horas, finalizando a etapa de pré-enriquecimento. Para a etapa de enriquecimento seletivo, inoculou-se alíquota de 0,1 ml do caldo de pré-enriquecimento em caldo Rappaport Vassiliadis e alíquotas de 1 ml em caldo Tetrationato previamente suplementado com 0,1 ml de solução verde brilhante 0,1% e 0,2 ml de solução de iodo. Incubou-se os tubos a a

35°C ± 2°C, em estufa por 24 horas. Ambos caldos utilizados para o enriquecimento seletivo foram semeados em estrias na superfície de placas contendo ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) e ágar Hektoen, para obtenção de colônias isoladas. Incubou-se as placas invertidas a 36°C ± 1°C por 24 horas.

Foram selecionadas colônias sugestivas de *Salmonella* sp., com as seguintes características, em cada tipo de meio sólido seletivo:

- **Ágar XLD:** rosas ou transparentes, com ou sem halos negros, lisas, brilhantes e de bordas regulares, com alcalinização do meio indicada pela alteração da coloração do mesmo para rosa escuro. Colônias negativas ou seja fermentadores de lactose ou sacarose produzem colônias amarelas com ou sem centro preto ;
- **Agar Hektoen:** colônias transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto. Cepas fortemente produtoras de H<sub>2</sub>S (ácido sulfídrico) podem produzir colônias inteiramente pretas. Colônias negativas ou seja fermentadores de lactose ou sacarose são de cor salmão e não transparentes.

Para as provas preliminares, inoculou-se cada colônia suspeita em ágar TSI e ágar LIA através de picada profunda e estriamento da rampa. Para TSI, a reação presuntiva esperada é rampa alcalina ou inalterada, com base amarela ou negra, com ou sem formação de gás; para LIA, a rampa é violeta e a base é violeta ou negra. Para prova complementar, utilizou-se as colônias do agar LIA e TSI e inoculou-se nos tubos do Kit comercial para identificação bioquímica de *Salmonella* (Newprov®).

Se após a leitura das provas bioquímicas, os resultados indicassem a presença de *Salmonella*, a mesma era confirmada através da prova de soroaglutinação.

Para a prova de soroaglutinação, retirou-se uma colônia sugestiva de *Salmonella* e espalhou-se em uma lâmina de vidro contendo uma gota de solução salina 2%. Adicionou-se uma gota do soro anti-*Salmonella* polivalente O. Realizou-se movimentos circulares na lâmina e procedeu-se a leitura preferencialmente em fundo escuro. A presença de *Salmonella* foi confirmada quando ocorria aglutinação e o resultado foi expresso como presença ou ausência em 25g de amostra.



### 3.2.4 Análise Parasitológica

As técnicas para exames parasitológicos de alimentos são, ainda, pouco desenvolvidas. A maioria dos procedimentos visa à concentração de ovos e larvas nas amostras, através de técnicas como a sedimentação espontânea, centrifugação e ultracentrifugação (GELLI et al., 1979; RUDE et al., 1984; OLIVEIRA e GERMANO, 1992a; 1992b; TAKAYANAGUI et al., 2001).

A identificação dos parasitas (protozoários e helmintos) foi realizada baseando-se na morfologia, porém esta técnica encontra dificuldades na diferenciação de alguns helmintos, como também de outros animais, cujos cistos, ovos e larvas são semelhantes à de espécies humanas (MARZOCHI, 1970; BARUFALDI et al., 1984; SILVA et al., 1995). Dessa maneira, os resultados foram expressos até nível de gênero.

A análise parasitológica foi baseada na metodologia descrita por Oliveira e Germano (1992 a), modificada por Takayanagui et al. (2000).

Cerca de 100g da unidade amostral coletada, foi pesada e colocada em um saco plástico. Nesse, introduziu-se 250 ml de água destilada e agitou-se manualmente por 30 segundos. Esse procedimento foi utilizado para a análise de cenoura e tomate.

Para as amostras de alface, empregaram-se duas lavagens. A primeira foi realizada com 100 ml de água destilada no saco plástico, seguida de agitação por 30 segundos. Na segunda lavagem, as alfaces foram desfolhadas e esfregadas com um auxílio de um pincel chato nº 16 numa bandeja de plástico com 150 ml de água destilada.

O líquido obtido da lavagem foi filtrado através de gaze cirúrgica dobrada em quatro, recolhidas em cálices com capacidade para 250 ml onde permaneceu em repouso por 24 horas para sedimentação.

Após a sedimentação espontânea, o líquido sobrenadante foi cuidadosamente desprezado e os 15 ml finais foram transferidos para um tubo e submetidos a centrifugação a 2600 RPM (centrífuga Sigma 4K15) por 2 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o volume final ajustado para 0,5 ml. Com auxílio de uma micropipeta, pipetou-se 50 µl do sedimento, que foi examinado por meio de lâmina corada com solução de lugol e em exame direto com microscópio ótico, utilizando

objetivas de 10X e 40X. Foram realizadas três lâminas para identificação dos parasitas e a contagem dos ovos e larvas.

Para o cálculo do número total de cistos, ovos e larvas nas amostras foi utilizada a fórmula proposta por Oliveira e Germano (1992a) e descrita na equação 1:

$$N_A = \frac{a \times 0,5}{0,05}, \text{onde} \quad \text{Equação 1}$$

Nota:

$N_A$  = n.º total de cistos, ovos e larvas na amostra;  
 $a$  = n.º de cistos, ovos e larvas obtidos na lâmina;  
 $0,5$  = volume final do sedimento (em ml);  
 $0,05$  = alíquota retirada (em ml).

Com a obtenção desses valores, os resultados foram expressos em números de cistos, ovos e larvas por 100 g de amostra, segundo a equação 2:

$$n = \frac{N_A}{P} \times 100, \text{onde} \quad \text{Equação 1}$$

Nota:

$n$  = n.º de cistos, ovos e larvas por 100 g de amostra;  
 $N_A$  = n.º total de cistos, ovos e larvas na amostra;  
 $P$  = peso da amostra em gramas.

### 3.2.5 Determinações Físico-Químicas

#### 3.2.5.1 Determinação de umidade e voláteis a 105°C – método gravimétrico

A umidade foi determinada segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2005). Foram pesadas 5 g das amostras (P) em cápsula previamente submetida à temperatura de 105 °C por 1 hora e pesada. As cápsulas com as amostras foram submetidas a secagem em estufa a 105°C por 2 horas, seguida de resfriamento em dessecador e pesagem. Após a pesagem, as amostras retornam à estufa a 105 °C por uma hora e repetiu-se a pesagem, até peso constante (p).

Para a determinação da umidade empregou-se a equação 3:

$$Umidade\% = \frac{(P - p) \times 100}{P} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

P = massa em grama da amostra

p = massa em grama da amostra seca.

#### 3.2.5.2 Determinação de sólidos totais (%)

Os sólidos totais ou matéria seca podem ser conceituados como sendo todos os constituintes das matérias-primas alimentícias que não a água, e as substâncias mais voláteis que vaporizam a temperatura inferior ou igual a 105 °C. A matéria seca é composta de proteínas, lipídios, glicídios, sais minerais, vitaminas, ácidos orgânicos, pigmentos e outras substâncias fisiológicas ativas ou não (CHAVES et al., 2004)

Os sólidos totais (matéria seca) foram calculados pela diferença entre 100 e a umidade.

#### 3.2.5.3 Determinação de resíduo mineral fixo (cinzas)

As cinzas foram determinadas pela calcinação em mufla segundo método 925.10 da AOAC (AOAC, 2000). Pesou-se 2 g da amostra em cadinhos calcinado e tarados. Iniciou-se a incineração aos poucos em bico de gás, aquecendo igualmente todas as faces do cadinho. Quando o produto estava transformado em massa de carvão sem desprendimento de fumaça, transferiu-se o cadinho para a mufla a 550°C deixando-o por espaço de tempo suficiente para a total destruição da matéria orgânica (aproximadamente 4 horas). Retirou-se a amostra e colocou em dessecador. Pesou-se até peso constante.

O teor de cinzas foi obtido através da aplicação da equação 4:

**Cálculo:**

$$Cinzas\% = \frac{N \times 100}{P} \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

N = massa em gramas de cinzas

P = massa em gramas da amostra.

#### 3.2.5.4 Determinação do teor de proteínas

O teor de proteína foi analisado segundo método 955.04C descrito pela AOAC (2000), o qual baseia-se nas fases de digestão, destilação e titulação.

**Digestão**

Em um papel manteiga, pesou-se cerca de 100 mg da amostra seca. Acrescentou 40 mg de óxido de mercúrio e 2 g de sulfato de potássio. Transferiu-se para um tubo de digestão e acrescentou 3 ml de ácido sulfúrico concentrado, dentro da capela. Aqueceu-se em bloco digestor, aumentando gradativamente a temperatura até atingir 350 °C. Deixou por 45 minutos e após resfriou-se.

**Destilação**

Acrescentou-se 5 ml de água destilada e colocou-se no destilador. Na extremidade do condensador, colocou-se um erlenmeyer com 10 ml de solução saturada de ácido bórico e 3 gotas de indicador vermelho de metila e azul de metileno (M 0,2% alcoólico + AM 0,2% alcoólico/ 2:1). Adicionou-se 10 ml da solução de NaOH e tiosulfato de sódio (60 g NaOH + 5 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para 100 ml) sobre a amostra. Fechou-se o funil e destilou-se até viragem do indicador (50 ml).

**Titulação**

Titulou-se o destilado do erlenmeyer com bureta de 25 ml até a cor voltar a roxo, usando solução de HCl 0,02N.

Para quantificação do teor de proteína foi empregado a equação 5:

$$\text{Proteína \%} = \frac{(V_a - V_b) \times 0,02 \times f_c \times 14,007 \times 6,25 \times 100}{\text{mg amostra}} \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

V<sub>a</sub>= volume de HCl 0,02N gastos na titulação da amostra

V<sub>b</sub>= volume de HCl 0,02N gastos na titulação do branco

0,02 = normalidade da solução de HCl

f<sub>c</sub> = fator de correção de volume da solução HCl 0,02N

14,007 = fator de conversão do nitrogênio

6,25 = fator de conversão de proteína

### 3.2.5.5 Determinação de lipídios

O teor de lipídios foi analisado segundo método 920.39C descrito pela AOAC (2000). Pesou-se cerca 5 g da amostra seca em papel de filtro. Dobrou-se e transferiu-se para um cartucho previamente desengordurado. Extraíu-se os lipídios no aparelho Soxhlet (balão previamente aquecido por 1 hora em estufa a 105 °C, resfriado em dessecador e pesado) com éter de petróleo de 6 a 10 horas. Evaporou-se o solvente e colocou-se o balão com o resíduo em estufa a 105 °C. Resfriou-se em dessecador. Pesou-se e retornou-se à estufa (30 minutos). Repetiu a pesagem até o peso constante.

Para quantificação do teor de lipídios foi empregado a equação 6:

$$\text{Lipídios\%} = \frac{P_2 - P_1}{P_0} \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

P<sub>0</sub>= quantidade de amostra em gramas

P<sub>1</sub>= peso do balão dessecado em gramas

P<sub>2</sub>= peso do balão + lipídios após a secagem em gramas

### 3.2.5.6 Determinação de pH

O pH foi determinado por potenciometria de acordo com o método 981.12 da AOAC (2000).

### 3.2.5.7 Determinação de fibra alimentar total (FAT)

Fibra alimentar total constitui-se todos os componentes das paredes vegetais incluídas na dieta humana que resistem a ação das secreções do trato gastrointestinal (GUERRA et al., 2004).

Para determinação do teor de fibra alimentar total empregou-se a metodologia descrita por Prosky et al. (1992) e adotada pela AOAC (método 985.29) (PROSKY et al., 1992; AOAC, 2000).

Pesou-se 1 g da amostra seca em um bequer de 250 ml, em triplicata, e adicionou-se 40 mL de tampão fosfato MES-TRIS pH 8,2 e 50 µl de alfa-amilase termoestável (Termamyl 120-L, Novozymes Ltda.). Os recipientes foram tampados com papel-alumínio e levados a banho-maria a 100 °C com agitação por 30 minutos. Após resfriamento adicionou-se 100 µl de solução de protease (Alcalase 0.6l, Novozymes Ltda.), cobriu novamente com papel alumínio e incubou-se a 60°C em banho-maria com agitação constante. Após 30 minutos removeu-se o papel alumínio do béquer e adicionou 5 ml de ácido clorídrico 0,561 M, sob agitação. Mantendo a temperatura de 60 °C corrigiu-se o pH das amostras para 4,5, através da adição de hidróxido de sódio 1 M e/ou ácido clorídrico 1 M. Em seguida adicionou-se 300 µl da solução de amiloglicosidase (AMG 200L) levou ao banho-maria (60°C), sob agitação, por 30 minutos. Depois desse período, duas das amostras foram usadas para fibra total (FT) e duas para fibra insolúvel (FI).

As duas amostras para determinação de fibra total (FT) foram tratadas com etanol 95% (proporção de 4:1 do hidrolisado obtido no tratamento enzimático), previamente aquecido a 60 °C, por uma hora para precipitar a fibra solúvel. Decorrido o tempo, o material foi filtrado em cadinho contendo 1 g de lã de vidro, pesado anteriormente. O resíduo presente no cadinho filtrante foi lavado com 15 ml de etanol a 95% (duas vezes) e 15 ml de acetona (duas vezes). Os cadinhos contendo os resíduos foram secos em estufa a 105 °C, durante a noite. Resfriou-se

os cadinhos em dessecador e pesou-se as amostras. Calculou-se a fibra alimentar total.

Na determinação da fibra insolúvel (FI), depois da incubação com a última enzima (AMG), as amostras foram imediatamente filtradas e lavadas com 20 ml de água destilada a 70 °C, recolhendo a água junto com o filtrado da hidrólise. Reservou-se o filtrado em um bequer de 250 ml. A fração fibra insolúvel ficou retida no cadinho e a solúvel no filtrado. Lavou-se o resíduo do cadinho com duas porções de 15 ml de etanol a 78%, duas porções de 15 mL de etanol 95% e duas porções de 15 ml de acetona. Depois da lavagem, todas as repetições foram deixadas por uma noite na estufa a 105 °C, e pesadas no dia seguinte. Resfriou-se os cadinhos em dessecador e pesou-se as amostras. Calculou-se a fração fibra alimentar insolúvel.

Mediu-se o volume do filtrado no béquer após a hidrólise e adicionou-se etanol a 95% a 60°C na proporção de 4:1 do volume do filtrado. Cobriu-se o béquer com papel alumínio e manteve a mistura em repouso por 1 hora a temperatura ambiente para precipitação da fração fibra solúvel. Filtrou-se a solução alcoólica em cadinhos previamente tarados, como realizado na fração fibra insolúvel. Calculou-se a fração fibra alimentar solúvel (FS).

Os resultados de FT, FI e FS, expressos em percentagem na matéria seca, foram obtidos após subtração dos valores de cinzas e brancos (resíduo das provas em branco corrigidos para cinzas e proteína), determinados conforme Prosky et al. (1992); e subtração da proteína bruta ( $N \times 6,25$ ), sendo N determinado por destilação em micro-Kjeldah.

#### 3.2.5.8 Determinação de Carboidratos (%)

Os carboidratos totais foram calculados por diferença (USP, 2006) como demonstrado na equação 7:

$$\text{HC (\%)} = 100 - (\text{PTN} + \text{LIP} + \text{FIBRAS} + \text{CINZAS}) \quad \text{Equação 7}$$

#### 3.2.5.9 Determinação do valor calórico

O valor calórico foi calculado a partir da energia procedente dos nutrientes, considerando os fatores de conversão de Atwater (USP, 2006):

$$\text{kcal} = (4 \times \text{g proteína}) + (4 \times \text{g de carboidrato total}) + (9 \times \text{g de lipídios})$$

### 3.2.5.10 Determinação de vitamina C

A partir da amostra homogeneizada pesou-se uma quantidade de amostra que contivesse cerca de 5 mg de ácido ascórbico. Transferiu-se as amostras pesadas para um frasco erlenmeyer de 30 ml com auxílio de aproximadamente 50 ml de água. Adicionou-se 10 ml da solução de ácido sulfúrico a 20%. Homogeneizou-se e quando necessário e filtrou-se para outro frasco erlenmeyer, lavando o filtro com água e logo após com 10 ml da solução de ácido sulfúrico a 20%. Adicionou-se 1 ml da solução de iodeto de potássio a 10% e 1 ml da solução de amido a 1%. Titulou-se com solução de iodato de potássio até coloração azul. Analisou-se em triplicata e fez-se uma prova em branco.

O teor de ácido ascórbico foi obtido após aplicação da equação 8 abaixo:

Equação 8

$$\text{Vitamina C mg \% m/m} = \frac{100 \times V \times F}{P}$$

Onde:

V= volume de iodato gasto na titulação

F= 3,522 ou 0,3522, respectivamente para iodato de potássio 0,02M ou 0,002M

P= n° de g ou ml da amostra

## 3. 3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo software GraphPad Instat, versão 3.06, sendo a significância estatística estudada mediante análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como são escassas as informações referentes a dimensão de segurança alimentar, o presente trabalho foi conduzido no sentido de ampliar o conhecimento sobre a qualidade sanitária e nutricional de hortaliças produzidas organicamente, uma vez que o consumidor, elo indispensável na cadeia produtiva, anseia que alimentos produzidos organicamente sejam mais saudáveis, isentos de agrotóxicos e que não ofereçam riscos a saúde.

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES VISITADAS

Para a coleta de hortaliças orgânicas analisadas no presente estudo foram visitadas 13 propriedades na Região Metropolitana de Curitiba (RMC) prevalecendo aquelas localizadas em São José dos Pinhais (77%) e Colombo (23%).

Os resultados obtidos referentes a caracterização da propriedade rural estão sumarizados na Tabela 1. Pode-se observar que as propriedades visitadas empregam mão de obra familiar (46,2%) e são consideradas de pequeno porte (7,4 Ha), características desejáveis nesse tipo de produção, que visa a manutenção do homem no campo através do emprego da mão de obra familiar e redução de latifúndios e monocultura.

Segundo uma pesquisa realizada pelo INCRA (Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária) e FAO, a agricultura familiar é a principal geradora de postos de trabalho no meio rural brasileiro. Mesmo dispondo de apenas 30% da área, é responsável por 76,9% do pessoal ocupado. Na região Sul, a agricultura familiar ocupa 84% da mão de obra utilizada na agricultura. Nesse levantamento cerca de 40% dos agricultores familiares do Brasil possuem menos de 5 ha e na região Sul predomina propriedades que possuem entre 5 e menos de 20 ha (GUANZIROLI e CARDIM, 2000).

<b>Localização</b>	São José dos Pinhais: 77% (10) Colombo: 23% (3)
<b>Média de Hectares</b>	7,4 ± 2,3
<b>Mão de obra</b>	Familiar: 46,2% (6) Terceiros: 53,8% (7)
<b>Instrução do proprietário</b>	Fundamental: 46,2% (6) Médio: 30,8 (4) Superior: 23% (3)
<b>Sistema de produção</b>	Orgânico: 92,3 (12) Convencional: 7,7% (1)
<b>Tempo de produção no sistema orgânico</b>	2 anos: 15,4% (2) 3 anos: 30,8% (4) 5 anos: 30,8% (4) 6 anos: 23% (3) <b>Média = 4 anos</b>
<b>Tempo de certificação</b>	1 ano: 7,7% (1) 2 anos: 30,8% (4) 3 anos: 30,8% (4) 4 anos: 23% (3) 5 anos: 7,7% (1) <b>Média = 3 anos</b>
<b>Destino da produção</b>	Venda para intermediário: 100% (13) Venda direta (feiras): 23% (3)
<b>Esgoto</b>	Canalizado: 30,8% (4) Fossa: 61,5% (8) Ambos: 7,7% (1)
<b>Tipo de adubação (principal)</b>	Composto de esterco bovino: 46,2% (6) Cama de aviário: 53,8% (7)

Tabela 1 – Identificação das propriedades visitadas na Região Metropolitana de Curitiba

Segundo dados da pesquisa realizada pela Prefeitura de Curitiba-PR sobre o envolvimento da família na produção orgânica, evidenciam a participação de até 2 membros da família nesse processo em 42,9% dos entrevistados (CIDADE JUNIOR, 2008). Pinheiro (2004), concorda com esses dados, apontando 43,3% dos entrevistados, onde duas pessoas da família trabalhavam na atividade, em um estudo que entrevistou 60 agricultores participantes da Rede Ecovida de Certificação Solidária na abrangência do Núcleo MBA.

Em relação à escolaridade do produtor rural, 46,2% apresentava ensino fundamental, 30,8% ensino médio e 23% ensino superior. Mazzoleni e Nogueira (2006), analisando 57 agricultores orgânicos de Curitiba e proximidades

verificaram que 40% cursaram até a 4ª série e apenas 5% o nível superior entre os agricultores em processo de conversão. Entre os agricultores certificados 46% tinham nível superior. Dados de um levantamento realizado com produtores orgânicos em Santa Catarina assemelharam-se aos anteriormente citados, onde o nível médio de escolaridade foi o ensino fundamental (OLTRAMARI, ZOLDAN e ALTMANN, 2002). Nas pesquisas realizadas por Darolt (2000) 89,7% dos agricultores orgânicos da RMC são proprietários das áreas cultivadas, o que configura um vínculo estável com a terra, colaborando para a sustentabilidade da atividade. Cerca de 82% do que é produzido serve para comercialização.

Em um estudo conduzido em Colombo-PR, Almeida (2003) discutiu as motivações para a mudança para agricultura orgânica. Encontrou 50% dos entrevistados afirmando que o motivo era a perspectiva de ampliar rendimentos aproveitando o crescimento da demanda, 30% apontou questões de saúde e 20% outros motivos. Percebe-se aí claramente a priorização da dimensão econômica sobre as outras, corroborando com a pesquisa de Darolt (2000) realizada na RMC, onde 66,7% dos entrevistados alegaram conversão para produção orgânica motivados por aspectos econômicos.

Apenas uma propriedade visitada possuía além da produção de hortaliças orgânicas, a produção de uva de mesa sob sistema convencional.

No trabalho desenvolvido por Cidade Junior (2008) cerca de 80% dos produtores orgânicos da região de Colombo-PR e 60% dos produtores orgânicos do município de Campo Largo-PR estão há mais de 10 anos na atividade. Embora os dados do trabalho mostrem pequena proporção de agricultores com menos de 10 anos de atividade orgânica nestas regiões, o presente trabalho verificou que os produtores orgânicos visitados nos municípios de São José dos Pinhais e Colombo estão produzindo de forma orgânica há 4 anos, corroborando com informações da EMATER que indicam crescimento de agricultores ditos “iniciantes” (EMATER, 2008).

A primeira certificadora a se estabelecer na RMC foi o Instituto Biodinâmico de Desenvolvimento (IBD), em meados dos anos de 1990, seguido do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) em 1994. Nesse trabalho o tempo de produção empregando o sistema orgânico variou de 2 anos (15,4%) a 6 anos (23%), sendo que todas as propriedades encontravam-se certificadas pelo IBD ou TECPAR no momento da coleta, uma vez há a necessidade desta

certificação para produto ser comercializado como orgânico. O tempo médio de obtenção da certificação foi de 3 anos. Em uma pesquisa desenvolvida na região de Campo Largo e Colombo, 30% dos agricultores afirmaram ter obtido a certificação a mais de 10 anos, 40% entre 6 e 10 anos e 30% em tempo inferior a 5 anos (CIDADE JUNIOR; 2008).

Segundo a pesquisa “Mercado de Orgânicos no Paraná – Caracterização e Tendências” realizada pelo IPARDES (2007) existem cinco tipos de mercado para produtos orgânicos: venda direta, varejo, de transformação, exportação e institucional. No mercado de venda direta, a relação é entre produtor e consumidor pode ser mais estreita pela possibilidade de não haver intermediários e acontece em feiras e na entrega em domicílio. No mercado de varejo, a produção é vendida para supermercados, lojas e restaurantes - o volume de venda é grande, mas a operação tem a participação de um intermediário (IPARDES, 2007).

O principal destino das hortaliças orgânicas nas propriedades visitadas é a venda para um intermediário (venda indireta), sendo que apenas 3 produtores alegam vender pequena parte da sua produção em feiras ou venda direta.

A RMC abrange 25 municípios, no entanto apenas 10 possuem produção orgânica expressiva. Cidade Junior (2008) agrupou esses municípios em função das similaridades em dois sistemas distintos: **Colombo**; representado por Colombo, São José dos Pinhais e Tijucas do Sul, e **Campo Largo**, contemplando Almirante Tamandaré, Bocaiúva do Sul, Campina Grande do Sul, Campo Magro, Campo Largo, Lapa e Mandirituba (CIDADE JUNIOR, 2008). Segundo dados de sua pesquisa, o sistema Colombo demonstrou produtores com comercialização indireta (associação e empresa), assemelhando-se aos dados do presente trabalho.

Segundo Cidade Junior (2008), Campo Largo conta com a comercialização através de cadeia curta pela venda direta, onde 86% dos alimentos orgânicos são comercializado em feiras, 12% por meio de vendas na propriedade/turismo rural e apenas 2% em forma de cestas. No caso da venda para o varejo, ela é direcionada para restaurantes orgânicos e convencionais, supermercados locais e quitandas e quanto à venda para processadoras, subentendem-se as empresas fornecedoras das redes de supermercados.

A falta de tratamento dos esgotos sanitários é considerado um dos maiores problemas ambientais da população brasileira. Segundo o senso do IBGE (2005), no Brasil, 47,2% da população não possui rede coletora de esgoto nem ao menos fossa séptica. Isso significa que quase 100 milhões de habitantes não dispõem desses serviços; o problema é ainda mais grave nas comunidades rurais e de baixa renda (IBGE). O Estado do Paraná não está muito diferente da situação atual brasileira, onde apenas 37,6% dos domicílios são atendidos por rede coletora de esgoto e o percentual é ainda mais reduzido quando se trata de tratamento adequado do esgoto coletado (IPARDES, 2009).

Nas propriedades visitadas o principal tipo de sistema de esgoto empregado eram fossas (61,8%) com apenas 4 propriedades utilizando esgoto canalizado (30,8%).

Quando questionados aos entrevistados sobre estratégias para manter e incrementar a fertilidade dos solos, foi mencionada a utilização de compostagem (46,2%) e cama de aviário (53,8%) como principais métodos de adubação.

Em um levantamento realizado no Estado de Santa Catarina com o objetivo de mapear os produtores orgânicos desse estado, evidenciou-se que o principal componente da adubação é a cama de aviário, e outros insumos naturais como calcário e cinzas, os quais fornecem suprimento de potássio ao solo (OLTRAMARI, ZOLDAN e ALTMANN, 2002).

Na pesquisa desenvolvida por Altmann e Oltramari (2004) alguns produtores orgânicos do Estado de Santa Catarina manifestam preocupação com a qualidade da cama de aviário utilizada como fertilizante na produção orgânica, devido a eventual presença de resíduos químicos (contidos em maravalhas de madeiras tratadas com pentaclorofenol, resíduos de antibióticos no esserco de aves) de forma que poderia resultar em um comprometimento da segurança alimentar. Segundo os autores, a cama de aviário quando utilizada como prática de adubação na agricultura orgânica deve ser submetida ao processo de compostagem ou descanso por um período mínimo de 180 dias

A Instrução nº07, de 17 de maio de 1999, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, somente permite o uso de pó de serra, cascas e derivados (componentes da cama de aviário) se livres de contaminação por conservantes e mediante autorização da certificadora (BRASIL, 1999).

Um dos grandes questionamentos sobre segurança dos alimentos orgânicos se deve justamente a utilização dos adubos acima referidos. Alguns autores afirmam que o emprego desses adubos orgânicos poderia resultar em uma contaminação microbiológica e parasitológica maior nos alimentos produzidos no sistema orgânico (VICTORINO, 2007). No entanto, na pesquisa realizada em Florianópolis-SC tanto produtores orgânicos como os convencionais empregavam cama de aviário na produção de hortaliças, com um interessante diferencial nas concentrações empregadas, uma vez que nas propriedades orgânicas a dosagem foi de 4,3 t/ha e nas propriedades convencionais de 15,9 t/ha (ALTMANN e OLTRAMARI, 2004).

#### 4.2 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS HORTALIÇAS ORGÂNICAS

A legislação brasileira, através da RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (ANVISA, 2001), estabelece limites microbiológicos para coliformes fecais (CF) ou termotolerantes e *Salmonella* em hortaliças *in natura*. Segundo essa regulamentação, as hortaliças *in natura* podem apresentar até  $10^2$  NMP/g de coliformes fecais, e ausência de *Salmonella*. Embora, o presente trabalho tenha avaliado as condições microbiológicas de hortaliças orgânicas, utilizou-se os mesmos critérios empregados para hortaliças convencionais, devido a inexistência de parâmetros para alimentos provenientes de cultivo orgânico.

Para Siqueira (1995), os coliformes diferenciam-se em coliformes totais e coliformes fecais, onde o índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas, sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento e estocagem. Já o índice de coliformes fecais é empregado como indicador de contaminação fecal. A população desse grupo é constituída de uma proporção de *Escherichia coli*, que tem seu habitat exclusivo no trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente, sendo assim o mais importante indicador de contaminação fecal (GUERREIRO, 1984; SIQUEIRA, 1995).

A Tabela 2 apresenta os valores encontrados para coliformes totais e fecais nas amostras analisadas. Embora não existam informações na legislação brasileira quanto aos limites de contagens toleradas para coliformes totais, tais

análises foram realizadas considerando-se que os resultados positivos indicam as condições inadequadas de higiene do local, do produto e risco de uma contaminação por patógenos fecais causadores de doenças (TAVARES e SARAIVA, 2009).

Hortaliças	Região	NMP*/g		Resultados
		Coliformes Totais	Coliformes Fecais	
Alface Produtor 1	São José dos Pinhais	$\geq 2,4 \times 10^3$	$\geq 2,4 \times 10^3$	Insatisfatório
Alface Produtor 2	São José dos Pinhais	$1,1 \times 10^3$	$2,1 \times 10^2$	Insatisfatório
Alface Produtor 3	São José dos Pinhais	$1,5 \times 10^2$	$3,9 \times 10$	Satisfatório
Alface Produtor 4	São José dos Pinhais	$1,1 \times 10^3$	$4,3 \times 10$	Satisfatório
Alface Produtor 5	São José dos Pinhais	$2,4 \times 10^2$	$4,3 \times 10$	Satisfatório
Tomate Produtor 6	São José dos Pinhais	< 3	< 3	Satisfatório
Tomate Produtor 7	São José dos Pinhais	< 3	< 3	Satisfatório
Tomate Produtor 8	São José dos Pinhais	27	<3	Satisfatório
Tomate Produtor 9	São José dos Pinhais	9	<3	Satisfatório
Cenoura Produtor 10	São José dos Pinhais	$1,5 \times 10^2$	$3,9 \times 10$	Satisfatório
Cenoura Produtor 11	Colombo	$1,5 \times 10^2$	<3	Satisfatório
Cenoura Produtor 12	Colombo	27	<3	Satisfatório
Cenoura Produtor 13	Colombo	$2,4 \times 10^2$	$2,1 \times 10^2$	Insatisfatório

Nota: \* NMP = número mais provável

Tabela 2 – Coliformes totais e fecais nas hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba

Em relação aos coliformes totais, com exceção das amostras de tomate e da cenoura do produtor 12, todas as demais hortaliças apresentaram contagem desse grupo de microorganismos acima de  $10^2$  NMP/g. As amostras de alface

orgânica apresentaram altas contagens de coliformes totais, variando de  $1,5 \times 10^2$  a  $> 2,4 \times 10^3$  NMP/g (Tabela 2).

Tavares e Saraiva (2009) analisando a presença de coliformes em amostras de alface coletadas na região Oeste do Paraná, evidenciaram presença de coliformes totais em todas as hortaliças, independente do tipo de cultivo. No entanto, a presença desses microorganismos foi menor nas alfaces orgânicas, com contagens de 43 NMP/g, seguido das obtidas em cultivo convencional ( $4,6 \times 10^2$  NMP/g) e hidropônica ( $> 2,4 \times 10^3$  NMP/g).

Amostras de alface hidropônicas e convencionais coletadas na cidade de Rio Branco-AC apresentaram grande amplitude na enumeração de coliformes totais e fecais, com resultados compreendidos entre 14 a  $> 2,4 \times 10^3$  NMP/g. As alfaces provenientes de cultivo convencional apresentaram maior grau de contaminação que hidropônicas (SOUZA, BEZERRA e FURTADO, 2006).

A pesquisa de Faria, Falcão e Tórtora (2005) condiz com os resultados do presente estudo, pois demonstra que todas as amostras, tanto do cultivo convencional quanto do hidropônico, apresentaram altas contagens de coliformes totais. Rosa, Martins e Folly (2005) também detectaram presença de coliformes totais entre 4 até  $> 2,4 \times 10^3$  NMP/g em todas as amostras de hortaliças analisadas, assim como Neta et al. (2004), que direcionaram seu trabalho nas diferentes etapas de processamento da alface (pós-recepção, pós higienização e pós corte) e detectaram coliformes totais  $> 2,4 \times 10^3$  NMP/g em todas as amostras das três etapas, e Santana et al. (2006), que analisando alfaces da variedade cressa nos três diferentes sistemas de cultivo, encontraram presença de coliformes totais e fecais em pelo menos uma das diluições, nos três diferentes sistemas.

Com base na regulamentação vigente, 23% (3/13) das hortaliças orgânicas analisadas apresentaram inadequadas para o consumo humano (Tabela 2), pois encontravam-se contaminadas por coliformes de origem fecal. Destaca-se a contaminação em alfaces, onde 40% (2/5) das mesmas apresentaram contagens de coliformes fecais superiores ao limite estabelecido (Figura 4).



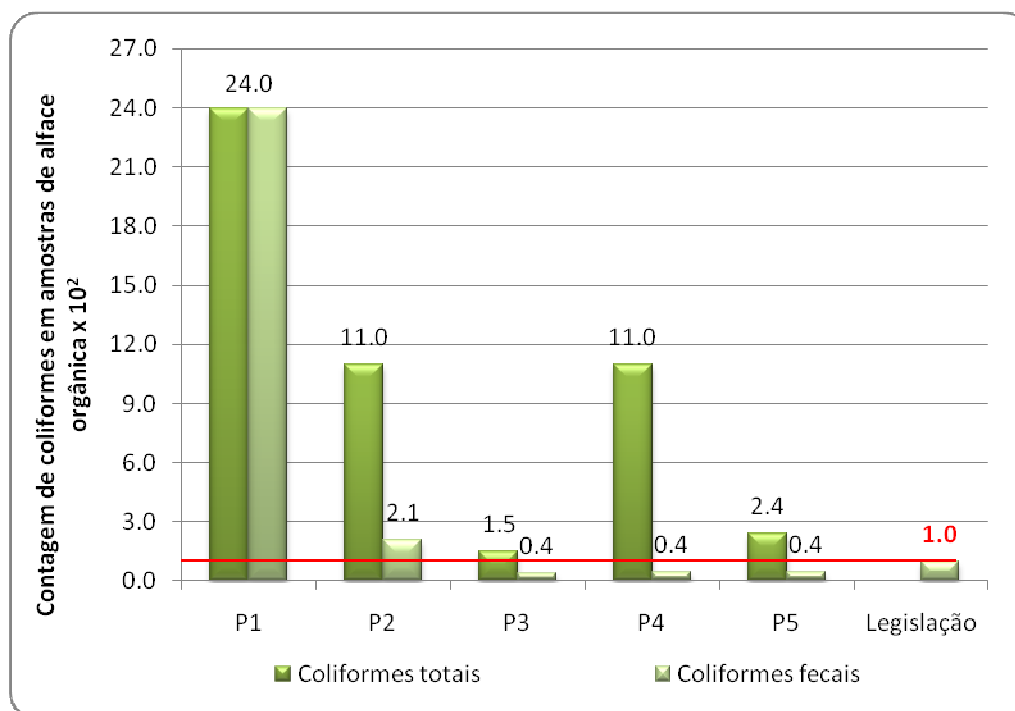


Figura 4 – Contaminação por coliformes nas amostras de alface orgânica provenientes da Região Metropolitana de Curitiba

Nota: P = produtor

Balioni et al. (2003) analisaram a presença de coliformes fecais em amostras de alface agro-ecológicas e convencionais da cidade de Campinas-SP e verificaram contaminação superior ao encontrado nesse trabalho, com 75% das amostras de alface agroecológicas e mais de 85% das alfaces convencionais contaminadas por coliformes fecais. Já Tavares e Saraiva (2009) detectaram coliformes fecais acima dos padrões sanitários vigentes apenas nas alfaces hidropônicas, uma vez que as alfaces provenientes de cultivo orgânico e convencional apresentaram contagens de 9 NMP/g. Segundo os autores do trabalho, a contaminação das alfaces hidropônicas deve ter sido transmitida as hortaliças através da água ou solução nutritiva empregada no cultivo.

Diferentemente, alfaces hidropônicas apresentaram contagem de bactérias significativamente inferiores às cultivadas de forma orgânica ou convencional, no entanto não foi detectada diferença entre as contagens obtidas nas folhas de alfaces orgânicas e convencionais. Esse resultado pode ser justificado pelo fato das alfaces orgânicas e convencionais serem cultivadas em

contato com o solo, que é uma importante fonte de contaminação microbiana (FAVARO-TRINDADE et al., 2007).

A contaminação por coliformes fecais das amostras de alface variou de  $2,1 \times 10^2$  a  $2,4 \times 10^3$ , sendo inferiores as encontradas por Guimarães et al. (2003) ao analisar alfaces comercializadas em Lavras-MG. Os referidos autores verificaram alta contagem de coliformes fecais. A contagem média global para cada tipo de estabelecimento comercial foi  $8,6 \times 10^5$  em feiras-livres,  $3,8 \times 10^5$  em sacolões e  $3,2 \times 10^5$  nos supermercados.

Coliformes fecais acima do limite tolerável foram detectadas em 29% das alfaces de cultivo convencional e em 7,3% das alfaces hidropônicas, ambas não sanitizadas, e, mesmo após processo de sanitização, 12,7% das amostras de cultivo convencional e 5,4% de cultivo hidropônico permaneceram com alta contaminação (FARIA, FALCÃO e TÓRTORA, 2005).

Contagens mais elevadas das encontradas nesta pesquisa foram descritas em um trabalho que avaliou amostras de alface cultivadas com agrotóxicos do município de Campos dos Goytacazes-RJ, onde oitenta por cento das amostras apresentavam-se contaminadas por coliformes fecais acima do limite permitido pela legislação (ROSA e MARTINS, 2001). Na pesquisa desenvolvida por Von Laer (2001), os níveis de contaminação foram semelhantes aos encontrados nesse estudo, uma vez que o autor relata que cerca de 20% das amostras estavam contaminadas. Apenas 6% das alfaces orgânicas produzidas na escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás apresentaram contagem de coliformes fecais acima de  $10^2$  NMP/g (MACHADO, 2004).

Foram analisados níveis de contaminação de coliformes fecais em alface localizadas em Ibiúna, Jaguariúna, Campinas e Morungaba-SP. Embora tenha sido constatada a presença de coliformes fecais em níveis abaixo do tolerado, ficou evidente que as amostras do cultivo convencional apresentaram níveis superiores de contaminação em relação as alfaces orgânicas (LOTTO e VALARINI, 2007).

Conforme citado por Obuobie et al. (2006), a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos estabelece limite de coliformes fecais em hortaliças frescas de  $1,0 \times 10^3$  NMP/g. Em relação a esse critério,

apenas a amostra de alface do produtor 1 estaria em desacordo, uma vez que a mesma apresentou  $2,4 \times 10^3$  NMP/g de coliforme fecal.

A Tabela 3 apresenta os resultados encontrados para a análise de *Salmonella* nas hortaliças orgânicas analisadas. A RDC 12/01 (ANVISA, 2005), estabelece ausência desse microorganismo, e, assim sendo, duas amostras das treze analisadas (15,4%), uma de alface (produtor 2) e a outra de cenoura (produtor 13), encontrava-se em desacordo com a legislação brasileira, por apresentar *Salmonella*.

Hortaliça	Região	<i>Salmonella</i> em 25g	Resultados
Alface Produtor 1	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Alface Produtor 2	São José dos Pinhais	Presente	<b>Insatisfatório</b>
Alface Produtor 3	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Alface Produtor 4	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Alface Produtor 5	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Tomate Produtor 6	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Tomate Produtor 7	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Tomate Produtor 8	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Tomate Produtor 9	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Cenoura Produtor 10	São José dos Pinhais	Ausente	Satisfatório
Cenoura Produtor 11	Colombo	Ausente	Satisfatório
Cenoura Produtor 12	Colombo	Ausente	Satisfatório
Cenoura Produtor 13	Colombo	Presente	<b>Insatisfatório</b>

Tabela 3 – *Salmonella* nas hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba

Takayanagui et al. (2001) relataram contaminação por *Salmonella* inferiores ao encontrado nesse trabalho, uma vez que em apenas 9% das amostras de verduras foi detectado *Salmonella*. No entanto, a contaminação por

coliformes fecais foi significativamente superior, com 63% das verduras com concentrações desse microorganismo acima do limite permitido.

Em apenas uma amostra de alface orgânica foi detectada a presença de *Salmonella* (Tabela 3). Já nas alfaces analisadas por Tavares e Saraiva (2009) foi observada contagem alta de *Salmonella* e *Shigella* nos três tipos de cultivo, sendo que as alfaces de cultivo hidropônico apresentaram índices alarmantes de contaminação. Ausência de *Salmonella* foi relatada por Santana et al. (2006) em amostras de alface crespa provenientes de cultivo orgânico, hidropônico e convencional e nas amostras de alface convencional e hidropônica coletadas na cidade de Rio Branco-AC (SOUZA, BEZERRA e FURTADO, 2006). Semelhantemente, Machado (2004) não verificou contaminação de alfaces orgânicas por *Salmonella*.

Não foi detectado *Salmonella* nas amostras de alface servidas em restaurantes self-service em Niterói-RJ. No entanto, verificou-se que 53,3% das amostras apresentavam contagem de coliformes fecais acima do padrão preconizado pela legislação (PAULA et al., 2003). Também não houve detecção de *Salmonella* em nenhuma das alfaces, tanto as de cultivo convencional quanto as de cultivo hidropônico analisadas por Faria, Falcão e Tórtora (2005) o que foi confirmado também por Neta et al. (2004) que constataram ausência do microorganismo em 100% das amostras de alface.

Alguns apontamentos são feitos em relação a produção de alimentos de forma orgânica, em especial sobre a maior suscetibilidade desses alimentos à contaminação microbiológica do que os convencionais, por usar em grande escala a adubação orgânica, de origem animal. Fezes de animais apresentam bactérias como *Escherichia coli* e *Salmonella* sp as quais podem provocar surtos de toxinfecção alimentar quando atingem quantidades elevadas nos alimentos (BUAINAIN e BATALHA, 2007). Contudo, como citado anteriormente, no trabalho de Altmann e Oltramari (2004) não apenas o cultivo orgânico emprega esse tipo de adubação, como também o cultivo de forma convencional.

Três espécies de vegetais, alface, rabanete e espinafre foram cultivadas no sistema orgânico, em solo fertilizado com seis tratamentos diferentes (adubo mineral, esterco de galinha, bovino e suíno, cama de frango e esterco bovino associado com biofertilizante líquido de aplicação foliar) e submetidos a avaliação da qualidade microbiológica. Todas as amostras analisadas foram

consideradas apropriadas para o consumo humano, de acordo com a legislação brasileira em vigor, uma vez que, em nenhuma delas foi detectada a presença de *Salmonella*. Em nenhuma das amostras de rabanete e espinafre o nível de coliformes fecal foi  $\geq 10^2/\text{g}$  e em somente 6,6% das amostras de alface foi maior que  $10^2/\text{g}$  (MACHADO et al., 2006).

Um estudo semelhante foi realizado por Abreu (2008), e também foi observado ausência de *Salmonella* nas amostras de alface tratadas com diferentes tipos de adubação.

É reconhecido que hortaliças são fontes importantes de vinculação de microorganismos causadores de doenças ao homem. Alguns autores sugerem que hortaliças provenientes de cultivo orgânico representem maior risco de transmissão desses microorganismos, devido ao tipo de adubação empregado e pela não utilização de agrotóxicos. No entanto, o que se verificou com os resultados obtidos através das análises citadas, e dados publicados referentes a avaliação higiênico-sanitária de hortaliças de cultivo convencional, hidropônico e orgânico, foi que a qualidade microbiológicas das hortaliças orgânicas, provenientes da região Metropolitana de Curitiba, apresentam-se satisfatórias. Essa consideração pode ser reforçada com os resultados obtidos por Balioni et al. (2003), Faria, Falcão e Tórtora (2005), Rosa, Martins e Folly (2005), Santana et al. (2006), Favaro-Trindade et. (2007), Tavares e Saraiva (2009) os quais constataram que o tipo de cultivo não é fator exclusivo, nem sequer preponderante na qualidade microbiológica das hortaliças.

A qualidade e segurança de hortaliças frescas dependem de sua microbiota, principalmente a flora microbiana inicial. Cada etapa percorrida entre o produtor e o consumo final influencia nos aspectos microbiológicos do produto. Manuseio, armazenamento, transporte e comercialização incorretos podem comprometer a qualidade e segurança do produto através do aumento da população de microorganismos (MAISTRO, 2001; NASCIMENTO, SILVA e CATANOZI, 2003), e que portanto adoção de práticas de produção e higiene adequada podem reduzir os riscos sanitários desses alimentos.

#### 4.3 AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA DAS HORTALIÇAS ORGÂNICAS

As hortaliças in natura são amplamente recomendadas como parte da alimentação diária por seu grande aporte de vitaminas, sais minerais, fibras alimentares e baixo valor calórico, sendo amplamente utilizada em dietas. Porém, ao serem atraídos pelos benefícios oferecidos pelas hortaliças, os consumidores se expõem aos riscos de infecções por enteroparasitas, uma vez que se consumidas cruas na forma de saladas podem servir como via de transmissão quando higienizadas inadequadamente. Essas enteroparasitoses são prejudiciais à saúde humana, podendo afetar o equilíbrio nutricional, além de causar complicações significativas como diarreias, anemias, hemorragias, obstrução intestinal, prolapso retal, formação de abscessos e em alguns casos provocar óbito (MONTANHER, CORADIN e SILVA, 2007). Além disso, as doenças veiculadas por alimentos têm impacto sócio-econômico, sendo responsáveis por ausências ao trabalho, incapacitando as pessoas na realização de suas tarefas, além de representarem custo hospitalar nos tratamentos e internações (SOUZA, BEZERRA e FURTADO, 2006).

Segundo dados da UNICEF (1998), as enteroparasitoses figuram como um dos grandes problemas de Saúde Pública, afetando mais de 30% da população mundial, com maior prevalência nos países em desenvolvimento.

Vários estudos tem sugerido a possibilidade da ocorrência de transmissão de enteroparasitas ao homem por meio de frutas e hortaliças consumidas cruas, provenientes de áreas cultivadas e contaminadas por dejetos fecais presentes na água e no solo (OLIVEIRA e GERMANO, 1992b; AMAHMID, ASMAMA e BOUHOUM, 1999; GUILHERME et al., 1999; ERDOGRUL e SENER, 2005).

Geralmente, a água utilizada na irrigação é proveniente de rios, córregos, lagos ou poços adjacentes as hortas, sendo rara a utilização de água de abastecimento público, devido principalmente ao seu alto custo, uma vez que a demanda exigida para esse propósito é bastante elevada. Portanto, a água destinada a irrigação é transportada através de bombas ou canais desde o rio até as hortas, sem qualquer tratamento prévio, podendo vir a ser uma fonte potencial de enteropatógenos para o vegetal que será irrigado (OLIVEIRA e GERMANO, 1992b).

Apesar da relevância do tema em questão são poucos os trabalhos publicados na área da saúde que estabelecem graus de contaminação de hortaliças, provenientes de cultivo orgânico, por parasitas e sobre a qualidade

higiênico-sanitária desses alimentos. Assim sendo, o presente trabalho avaliou a presença de parasitas, patogênicos ou não ao homem, em amostras de alface, tomate e cenoura, produzidos sob sistema orgânico, procedentes da Região Metropolitana de Curitiba. Cabe salientar que não se objetivou fazer a identificação da espécie das formas parasitária encontradas, limitando-se apenas ao gênero, uma vez que a ANVISA através da R. CNNPA nº 12 de 1978 determina que hortaliças devem estar ausente de parasitas, larvas e sujidades (ANVISA, 1978).

Formas parasitárias	Contaminação Alface Orgânico n=15					Contaminação Tomate Orgânico n=12				Contaminação Cenoura Orgânica n=12			
	P*1**	P2**	P3**	P4**	P5**	P6**	P7**	P8**	P9**	P10**	P11***	P12***	P13***
Ovo de ancilostomídeo	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Cisto de <i>Entamoeba</i> sp.	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>Entamoeba</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
Ovo de ácaro	1	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácaro	1	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Insetos	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Ovo de nematóide	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Larva de nematóide	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ovo de <i>Toxocara</i> sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Nota:

\*P= Produtor

\*\* Produtor em São José dos Pinhais

\*\*\* Produtor em Colombo

Os números nas colunas indicam a quantidade de amostras contaminadas com a estrutura parasitária indicada nas linhas, considerando que para cada produtor visitado foram analisadas 3 amostras.

Tabela 4 – Contaminação parasitológica nas diferentes hortaliças analisadas

A Tabela 4 apresentam todos os parasitas encontrados nas amostras das três diferentes hortaliças orgânicas analisadas. Foram submetidos a avaliação parasitológica três amostras de cada hortaliças proveniente dos diferentes produtores visitados. Portanto, analisou-se 15 amostras de alfaces (3 unidades coletadas nos produtores 1, 2, 3, 4 e 5), 12 amostras de cenoura (3 unidades

coletadas nos produtores 6, 7, 8 e 9) e 12 de tomate (3 unidades coletadas nos produtores 10, 11, 12 e 13), totalizando 39 amostras. Cabe ressaltar que para cada amostra analisada foram realizadas seis lâminas, três destas foram empregadas para observação a fresco e três coradas com solução de Lugol para identificação e contagem de ovos.

Mesquita et al. (1999) apresentaram os resultados da contaminação parasitológica de hortaliças de Niterói-RJ, separando as porcentagens obtidas entre a presença de estruturas parasitárias com morfologia semelhante as de espécies parasitas de animais (oocistos não esporulados, ovos estrongiliformes) e contaminantes como ácaros, ovos de ácaros, insetos, larvas de nematóides e protozoários ciliados. Nesse trabalho optou-se por utilizar a expressão “*contaminação parasitológica*” quando se tem a presença de contaminantes e/ou parasitas.

O percentual de contaminação parasitária nas hortaliças orgânicas analisadas nesse trabalho foi elevado, uma vez que 24 amostras (61,5%), das 39 analisadas, apresentaram-se positiva para alguma estrutura parasitária. Similar aos dados do presente trabalho, observou-se contaminação parasitária em 62,3% das hortaliças analisadas por Soares (2004). Do total de amostras analisadas por Melo et al. (2004) 76,7 % foram positivas para algum protozoário e/ou helminto. Resultado superior foi evidenciado por Rocha, Mendes e Barbosa (2008) onde mais de 90% das hortaliças *in natura* orgânicas e hidropônicas, provenientes de Recife-PE apresentaram contaminação por enteroparasitos, não havendo diferença estatística entre o tipo de cultivo (ROCHA , MENDES e BARBOSA, 2008).

No trabalho desenvolvido por Ono et al. (2005), cerca de 45% das amostras colhidas foram positivas para algum tipo de enteroparasitas. Taxas inferiores de contaminação por enteroparasitas foram descritas por Guilherme et al. (1999) com 16,6% das hortaliças contaminadas, Silva et al. (1995) com 21,4% e Mesquita et al. (1999) com apenas 6,2% de presença de estruturas parasitária.

Os percentuais de contaminação por enteroparasitas nas três variedades de hortaliças estudadas por Silva, Andrade e Stamford (2005) foram 60% para alface lisa, 30% para agrião e 20% para acelga (SILVA , ANDRADE e STAMFORD, 2005).



A forma parasitária mais encontrada nesse trabalho foi ovo de ancilostomídeo (12,8%), seguido por cisto de *Entamoeba* sp (10,2%), ovo de ácaro (10,2%), ácaros (10,2%), insetos (7,7%), *Entamoeba* sp. (5,1%), ovo de nematóide (5,1%), larva de nematóide (2,6%) e ovo de *Toxocara* sp. (2,6%), conforme discriminado na Tabela 5.

Formas parasitárias	Alface n = 15		Cenoura n = 12		Tomate n = 12		Contaminação total
	F	%	F	%	F	%	
Ovo de ancilostomídeo	4	26,7	1	8,3	-	-	12,8%
Cisto de <i>Entamoeba</i> sp.	3	20	1	8,3	-	-	10,2%
<i>Entamoeba</i> sp.	-	-	2	16,6	-	-	5,1%
Larva de nematóide	1	6,6	-	-	-	-	2,5%
Ovo de nematóide	2	13,3	-	-	-	-	5,1%
Ovo de <i>Toxocara</i> sp.	-	-	1	8,3	-	-	2,5%
Insetos (pulgões)	3	20	-	-	-	-	7,7%
Ovo de ácaro	4	26,7	-	-	-	-	10,2%
Ácaros	4	26,7	-	-	-	-	10,2%

Tabela 5 – Frequência de contaminação parasitológica das hortaliças orgânicas provenientes da Região Metropolitana de Curitiba

Oliveira e Germano (1992b) analisaram hortaliças *in natura*, comercializadas na Região Metropolitana de São Paulo-SP visando à pesquisa e a identificação de cistos de protozoários de interesse médico, verificando uma grande variedade de protozoários, dentre os quais destacaram-se *Entamoeba* sp. e *G. lamblia*.

Cistos de *Entamoeba coli*, embora não sejam considerados patogênicos, apresentam grande valor como indicadores de contaminação fecal de origem humana nas hortaliças (OLIVEIRA e GERMANO, 1992b), uma vez que esse parasita coloniza o intestino do homem e sua presença nas hortaliças pode ter sido oriunda de falhas na higienização ou através da manipulação inadequada (PAULA et al. 2003).

Cabe destacar que 12,8% das hortaliças analisadas encontravam-se contaminadas com ovos de ancilostomídeo. É relevante mencionar que os ancilostomídeos são helmintos necessitando passar parte de sua vida no solo (ALMEIDA FILHO, 2008), o que pode justificar a elevada prevalência desses

parasitas no local de cultivo. Para Leite (2000), é indispensável à pesquisa desses helmintos nas hortaliças, uma vez que constituem excelentes indicadores de contaminação fecal desses alimentos e por serem parasitas de grande importância em Saúde Pública pela diversidade de manifestações clínicas que geram em seus hospedeiros (GRILLO et al., 2000).

Ao ser verificado a contaminação parasitológica das amostras de alface produzidas sob sistema orgânico na Região Metropolitana de Curitiba, observa-se que todas as amostras apresentaram alguma forma de parasita (Figura 5). A forma mais presente foi ovos de *ancilostomídeo* (26,6%), ovos de ácaro (26,6%), ácaro (26,7%), insetos (pulgões) (20%), cisto de *Entamoeba* (20%), ovo de nematóide (13,3%) e larva de nematóide (6,6%).



Figura 5 – Contaminação parasitológica das amostras de alfaces orgânicas provenientes da Região Metropolitana de Curitiba

Esse resultado pode ser compreendido uma vez que as alfaces apresentam folhas largas, justapostas, flexíveis e estrutura compacta, permitindo, dessa forma, maior contato com o solo durante seu cultivo e consequentemente maior fixação das estruturas parasitárias, propiciando, então, maior resistência aos processos de higienização (FALAVIGNA et al., 2005). Associado a estrutura física da hortalíça, pode-se atribuir também os resultados

obtidos a alta pluviosidade no período da coleta das amostras. A chuva ao cair no solo faz que partículas de terra acabem se alojando entre as folhas de alface, possibilitando a permanência de estruturas parasitárias. (ERDOGRUL e SENER, 2005) encontraram maiores taxas de contaminação nas alfaces coletadas nos períodos de chuva mais frequente. A contaminação de hortaliças por parasitas foi significativamente mais frequente na estação chuvosa, com cerca de 14% das amostras contaminadas por alguma estrutura parasitária (SIMÕES et al., 2001). Contrariamente, Oliveira e Germano (1992) verificaram que nas épocas chuvosas, os percentuais de contaminação foram sensivelmente mais baixos.

Uma pesquisa visando diagnosticar os níveis de contaminação parasitológica de hortaliças folhosas no Distrito Federal mostrou que independente do sistema de cultivo, todas as alfaces pesquisadas apresentaram elevados percentuais de contaminação por enteroparasitas (ALMEIDA FILHO, 2008). No entanto, Oliveira et al. (2004) pesquisando as condições microbiológicas e parasitológicas de alfaces comercializados em Salvador-BA, segundo diferentes sistemas de cultivo (hidropônico, orgânico e convencional), constataram que as alfaces orgânicas apresentaram o maior grau de contaminação por enteropatógenos, seguidas daquelas provenientes do cultivo convencional e hidropônico. Semelhantemente, Santana et al. (2006) relataram que para todos os tipos de helmintos e protozoários intestinais encontrados, as amostras de alface de cultivo orgânico apresentaram as maiores frequências de ocorrência, enquanto que o menor nível de contaminação foi observado nas amostras do sistema hidropônico.

As diferenças entre os níveis de contaminação dos três sistemas de cultivo de alfaces parecem estar associadas, fundamentalmente, com as condições sanitárias do ambiente em que são cultivadas, diferentes em cada sistema produtor, de acordo com as práticas de cultivo utilizadas (MARZOCHI, 1977; GELLI et al., 1979; SANTANA et al., 2006).

Mais de 60% das alfaces analisadas por Falavigna et al., (2005), provenientes do sistema convencional de produção, encontravam-se parasitadas por protozoários e helmintos, sendo a forma mais prevalente ovos de ancilostomídeos.

Conforme visualizado na Figura 5 ocorreu maior prevalência de ovos helmintos (ancilostomídeos) a cistos de protozoários (*Entamoeba* sp). Nas amostras de alface do Distrito Federal houve uma prevalência de cistos de protozoários em relação aos ovos de helmintos (ALMEIDA FILHO, 2008). Segundo Kozan et al. (2005) a contaminação por ovos de helmintos nas amostras de hortaliças foi de cerca de 6%. No entanto, ao se avaliar apenas as amostras de alface a porcentagem eleva-se para 11,4%.

As alfaces orgânicas analisadas nesse trabalho apresentaram contaminação por ovos de ácaro, ácaros, insetos, ovos de nematóide, larvas de nematóide inferior ao obtido por Alves et al. (2007), uma vez que esse autor identificou presença de larvas de nematóides (47,5%), ovos de ácaros (41,7%), ácaros (40,8%), insetos (34,2%), ovos de nematóides (30,8%). No entanto, o nível de contaminação por ovos de ancilostomídeos (6,7%) e cistos de *Entamoeba* sp. (5,0%) foi inferior aos das alfaces orgânicas.

Nas amostras de alface do Distrito Federal houve uma prevalência de protozoários sobre helmintos, sendo evidenciados *Entamoeba histolytica* (10%), *Entamoeba coli* (80%), *Ancylostoma* sp. (12%), *Hymenolepis nana* (12%) e *Balantidium coli* (38%) (ALMEIDA FILHO, 2008).

Os níveis de contaminação parasitológica nas amostras de alfaces lisas e agrião, analisadas por Oliveira e Germano (1992a), foram de 32% e 66%, respectivamente. Nesses vegetais predominou a presença de ancilostomídeos e *Ascaris* sp, sendo encontrado também *Strongyloides* sp., *Hymenolepis* sp., *Trichocephalus* sp, *Taenia* sp, *Toxocara* sp, *Fasciola* sp e *Enterobius* sp, em menor proporção.

Paula et al. (2003) relataram que os parasitas mais detectados nas amostras de alface servidas em restaurantes self-service em Niterói-RJ, foram larvas de nematóides, protozoários de vida livre flagelados e cistos de *Entamoeba coli*.

Cistos de *Entamoeba histolytica* foram detectadas em 2% das alfaces analisadas por Montanher, Coradin e Silva (2007), sendo esse o enteroparasita de maior importância médica devido a seu alto grau de patogenicidade. O cisto é a forma infestante do parasita, sendo veiculado e disseminado por hortaliças e água contaminadas por fezes humanas, permanecendo viável durante um

intervalo de tempo de 5 minutos nas mãos e um período maior do que 45 minutos sob as unhas (BARUFALDI et al., 1984).

Portadores assintomáticos de *Entamoeba histolytica* são os principais responsáveis pela contaminação de alimentos e disseminação dos cistos, podendo indicar os altos índices de parasitismo por *Entamoeba* spp em feiras livres e supermercados, como pode ser observado no estudo realizado por Freitas et al. (2004), onde uma maior positividade foi identificada para *Entamoeba* spp, sendo 35,7% para amostras providas de supermercados e 47,7% de feiras livres.

Um estudo piloto realizado em Florianópolis-SC mostrou que todas as amostras de alface e agrião analisadas provenientes de um “sacolão” continham um ou mais tipos de enteroparasitas, sendo que o parasita mais prevalente foi *G. lamblia*, seguido de *Entamoeba coli* e *E. nana* (CANTOS , NOLLA e MALISKA, 2003).

De acordo com os estudos conduzidos por Takayanagui et al. (2000, 2006) a condição higiênico-sanitária de hortaliças coletadas nas hortas é significativamente melhor daquelas adquiridas no comércio. Possivelmente, esses resultados sejam decorrentes do risco acumulado de contaminação nas sucessivas etapas do processo produtivo, incluindo o transporte e a manipulação de alimentos.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 5, apenas as amostras de alface apresentaram ovos de ácaros e insetos (pulgões), acometendo 26,7% e 20% das amostras analisadas, respectivamente. Guimarães et al. (2003), ao analisar amostras de alface comercializados nos supermercados de Lavras–MG, encontrou que 41,7% das amostras estavam contaminadas com ovos de ácaros, 40,8% apresentavam ácaros e cerca de 34% tinham insetos. Outras formas parasitárias e/ou contaminantes foram larvas de nematóides (47,5% das amostras), ovos de outros nematódeos (30,8%), oocistos não esporulados (23,3%), ovos tipo estrogilóide (21,7%) cistos de *Entamoeba* sp (5%) e ovos de *Toxocara* sp (1,7%).

Segundo Santana et al. (2006), as formas contaminantes menos frequentes foram os ácaros, presentes em 10% das amostras de alfaces orgânicas e convencional.

Em 10% das amostras de alface crespa coletadas em restaurantes self-service na cidade de Curitiba-PR foram observadas contaminações com alguma estrutura parasitária, sendo a contaminação por *Iodamoeba butschilii* presente em 4% das amostras, ovos de *Fasciola* hepática (2%), *Trichocephalus trichiurus* (2%) e cistos de *Entamoeba histolytica* (2%). Esta baixa incidência quando comparado a outros trabalhos pode ser resultado da possível higienização realizada nas alfaces após a colheita juntamente à sua forma de preparação para a comercialização, devido ao fato de que hortaliças prontas para o consumo já sofreram algum processo de seleção e lavagem, aumentando, desta forma, a eliminação de sujidades e consequentemente parasitas (MONTANHER, CORADIN e SILVA, 2007).

No trabalho realizado por Takayanagui et al. (2001) mais de 30% das amostras analisadas apresentaram positivas para enteroparasitas, sendo que as formas mais encontradas foram de *Entamoeba* sp, ancilostomídeos, *Ascaris* sp, *Giardia* sp, *Cryptosporidium* sp, *Hymenolepis nana*, *Toxocara* sp.

Gelli et al. (1979) analisando hortaliças comercializadas no município de São Paulo, constataram a presença de *Escherichia coli* em 74,4%, de ancilostomídeos em 59,2% e de *Strongyloides* sp em 59,2% das amostras.

No estado do Rio de Janeiro no período de outubro a dezembro de 1999, através do Programa de Controle do Complexo Teníase-cisticercose, avaliou-se o potencial de risco das hortaliças produzidas. O que foi verificado através das análises parasitológicas, foi a presença de ovos e larvas de *Strongyloides* sp., ancilostomídeos, *Ascaris* sp, *Giardia* sp, cisto de *Entamoeba histolytica*, sendo que apenas uma amostra apresentou-se negativa no exame parasitológico (CALDAS, 2000).

Cabe destacar que em 100% das amostras de tomate orgânico analisadas nesse trabalho não foram detectadas nenhuma forma de parasita (Tabela 5), assim como em 58,3 (7/12) das amostras de cenoura (Figura 6). Uma das razões para esse resultado baseia-se na estrutura física dos vegetais. O tomate, assim como a cenoura, apresenta superfície lisa o que dificultaria a permanência de estruturas parasitárias. No entanto, a cenoura é uma hortaliça que fica permanentemente em contato com o solo, por isso a contaminação por parasitas tende ser superior. Similarmente, nenhuma contaminação

parasitológica foi detectada nas amostras de tomate, rúcula, pimentão e repolho (KOZAN et al., 2005).

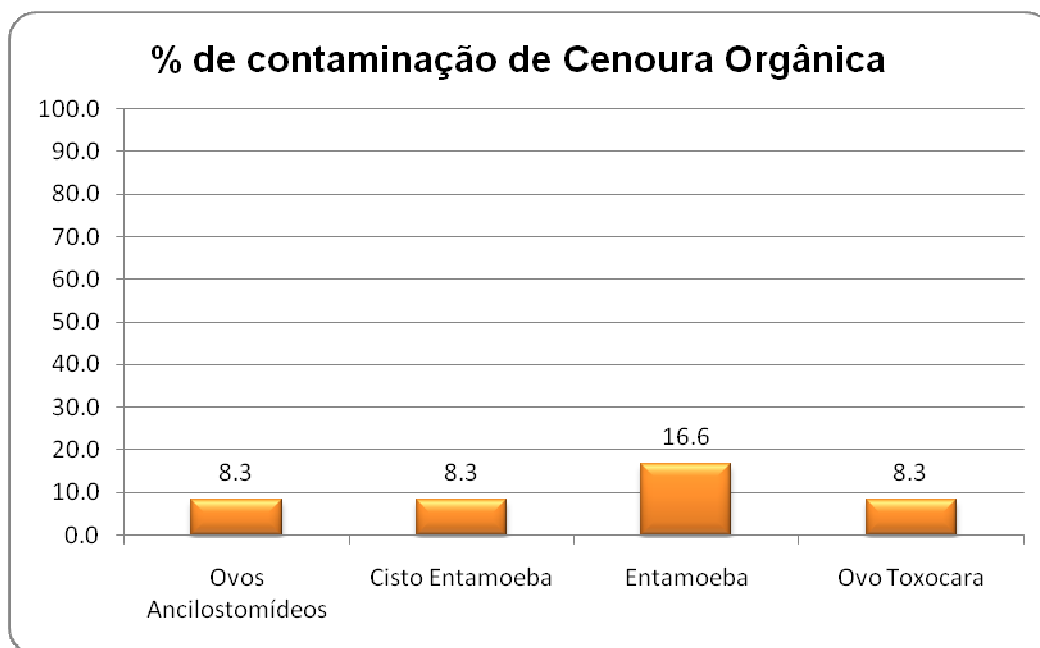


Figura 6 – Contaminação parasitológica das amostras de cenoura orgânica provenientes da Região Metropolitana de Curitiba

Em relação a presença de ovos de helmintos nas amostras de cenoura orgânica analisadas nesse trabalho ficou evidenciado contaminação de 8,3%. Resultado inferior foi obtido por Kozan et al. (2005) onde a contaminação por ovos de helmintos nas amostras de cenoura foi de 2,5%.

Dentre as hortaliças analisadas, apenas em uma amostra de cenoura (produtor 4) foi detectado *Toxocara spp.* A ocorrência desse helminto nas hortaliças pode ser proveniente de solos contaminados com ovos desse parasita originários de cães ou gatos parasitados, ou devido ao comprometimento do sistema de irrigação (OLIVEIRA e GERMANO, 1992a; MACKENZIE, SCHELL e BLAIR, 1995). No trabalho desenvolvido por Kozan et al. (2005) não foi evidenciado a presença de ovos de *Toxocara spp.* nas amostras de cenoura.

Guimaraes et al. (2003), também encontraram baixos níveis de ovos de *Toxocara* nas amostras de hortaliças comercializadas em Lavras-MG. *Toxocara cati* foi visualizado em amostras de agrião provenientes de supermercados e feiras livres em Florianópolis –SC (CANTOS et al., 2004).

A contagem do número total de ovos e larvas por 100 g de amostra foi sugerida por Oliveira e Germano (1992a) e Choi e Lee (1972), pois o tamanho e o volume das hortaliças é muito variável. Desta forma, na Tabela 6 estão apresentada os números de ovos e larvas obtidos na pesquisa quantitativa em 100g de amostra.

<i>Hortaliça</i>	<i>a*</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>Média a</i>	<i>NA**</i>	<i>N***</i>
<b><i>Alface produtor 1</i></b>	30,1	27,1	29,7	28,97±1,69	289,7	<b><i>279,4</i></b>
<b><i>Alface produtor 2</i></b>	27,0	23,1	24,3	24,80±1,99	248,0	<b><i>242,4</i></b>
<b><i>Alface produtor 3</i></b>	24,5	39,7	41,3	35,17±9,27	351,7	<b><i>332,4</i></b>
<b><i>Alface produtor 4</i></b>	34,3	43,7	29,7	35,90±7,13	359,0	<b><i>330,0</i></b>
<b><i>Alface produtor 5</i></b>	13,1	10,7	9,7	11,17±1,74	111,7	<b><i>101,8</i></b>
<b><i>Cenoura produtor 11</i></b>	8,3	7,0	7,3	7,53±0,68	75,3	<b><i>68,0</i></b>
<b><i>Cenoura produtor 12</i></b>	1,9	2,3	1,7	1,97±0,36	19,7	<b><i>17,5</i></b>
<b><i>Cenoura produtor 13</i></b>	2,3	1,9	2,8	2,33±0,45	36,6	<b><i>33,9</i></b>

Nota:

\* a= número de ovos e larvas obtidos na lâmina

\*\* NA = número total de ovos e larvas na amostra

\*\*\* N= número de ovos e larvas por 100 g de amostra

Tabela 6 – Quantidade de ovos e larvas de parasitas nas hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba

O número médio de ovos e larvas por 100 g de amostra foi superior nas amostras de alface, com contagem de 257,2. A contagem média nas amostras de cenoura foi de 39,8/100 g. Esta constatação se deve à estrutura vegetal, uma vez que as folhas de alface favorecem a fixação dos ovos e larvas dos parasitas.

Embora nesse estudo as amostras de alface apresentassem quantitativamente mais ovos e larvas de parasitas do que as amostras de cenoura, estas contagens foram inferiores as observadas por Oliveira e Germano (1992a), onde alface lisa e crespa tinham 501,3 e 568,1 ovos e larvas por 100g de amostra, respectivamente.

Quando se compara o resultado obtido nesse trabalho com os de outros estudos semelhantes, observa-se uma grande variação no tipo ou frequência de enteroparasitas, explicada, em parte, pela localidade, tipo de hortaliça, tipo de cultivo, condições climáticas, metodologia utilizada no exame parasitológico, entre outros fatores. No entanto, independente de sua frequência, parasitas



intestinais presentes nas hortaliças cultivada organicamente não diferiram substancialmente de descritos por outros autores (GUIMARÃES et al, 2003; MESQUITA et al., 1999; TAKAYANAGUI et al, 2001; (SILVA et al., 1995; GUILHERME et al., 1999; CANTOS , NOLLA e MALISKA, 2003)).

A presença de coliformes fecais, *Salmonella* e estruturas parasitárias nas hortaliças analisadas no presente estudo, demonstraram que as mesmas foram contaminadas de alguma forma, seja através da água de irrigação, presença de animais silvestres ou domésticos, solo contaminado, emprego de adubos sem tempo de compostagem adequado. Foi possível observar também que as amostras com impróprias para o consumo, do ponto de vista microbiológico, apresentavam-se contaminadas com estruturas parasitárias. As amostras de alfaces orgânicas coletadas no produtor 2 apresentaram concomitantemente contaminadas por coliformes fecais, *Salmonella* e estruturas parasitárias. Resultados semelhantes foram observados nas amostras de cenoura orgânica coletadas no produtor 13.

No entanto, ao compararmos os resultados obtidos da qualidade microbiológica e parasitológica das hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba, com dados presentes na literatura, pode-se verificar que o modo de produção, convencional ou orgânico, não interfere preponderantemente na qualidade das hortaliças, e sim que praticas inadequadas de produção aumentam significativamente o nível de contaminação. Corroborando com esta consideração podemos citar Nicholson et al. (2004) que afirma que não há disponível informações suficientes que declarem categoricamente que o risco de transferência de patógenos de propriedades orgânicas difere significativamente do risco associado com práticas de agricultura convencional (NICHOLSON et al., 2004).

#### 4.4 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

Para a contextualização dos resultados apresentados nas Tabelas 8, 9 e 10 adotou-se, como referência os valores obtidos tendo por base, alface americana (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) e cenoura crua (*Daucus carota* L.), registrados na Tabela Brasileira de Composição de

Alimentos (TACO, 2006). A discussão em torno dos resultados, baseia-se na quantidade identificada dos nutrientes obtidos a partir de análises de 100 g das hortaliças *in natura* (base úmida).

Os resultados das análises físico-químicas da alface orgânica, em base úmida, estão apresentados na Tabela 7.

Constituintes	TACO (2006)	Produtor 1	Produtor 2	Produtor 3	Produtor 4	Produtor 5
Umidade (%)	97,2	93,07 ± 1,09 <sup>ns</sup>	92,41 ± 1,18 <sup>ns</sup>	93,02 ± 1,18 <sup>ns</sup>	92,29 ± 0,78 <sup>ns</sup>	92,59 ± 0,95 <sup>ns</sup>
Matéria seca (%)	nd	6,93 ± 1,09 <sup>ns</sup>	7,59 ± 0,69 <sup>ns</sup>	6,98 ± 1,18 <sup>ns</sup>	7,71 ± 0,78 <sup>ns</sup>	7,41 ± 0,95 <sup>ns</sup>
Cinzas (%)	0,3	0,96 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,002 <sup>c</sup>	0,98 ± 0,004 <sup>e</sup>	0,93 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,95 ± 0,009 <sup>b</sup>
Proteína (%)	0,6	0,89 ± 0,04 <sup>ns</sup>	0,90 ± 0,04 <sup>ns</sup>	0,90 ± 0,03 <sup>ns</sup>	0,90 ± 0,03 <sup>ns</sup>	0,93 ± 0,03 <sup>ns</sup>
Lipídios (%)	0,1	0,21 ± 0,03 <sup>ns</sup>	0,24 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,04 <sup>ns</sup>	0,20 ± 0,03 <sup>ns</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>b</sup>
Carboidratos (%)	1,7	4,87 ± 1,08 <sup>ns</sup>	5,47 ± 0,71 <sup>ns</sup>	4,88 ± 1,18 <sup>ns</sup>	5,68 ± 0,76 <sup>ns</sup>	5,35 ± 0,94 <sup>ns</sup>
Fibra alimentar (%)	1,0	1,93 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,04 ± 0,05 <sup>ns</sup>	2,28 ± 0,23 <sup>b</sup>	2,02 ± 0,12 <sup>ns</sup>	2,04 ± 0,09 <sup>ns</sup>
pH	nd	6,11 ± 0,06 <sup>a</sup>	6,11 ± 0,03 <sup>e</sup>	6,19 ± 0,03 <sup>b</sup>	6,04 ± 0,03 <sup>c</sup>	6,22 ± 0,04 <sup>b</sup>
Vitamina C (m%)	11	20,31 ± 3,20 <sup>ns</sup>	21,02 ± 2,61 <sup>ns</sup>	21,05 ± 3,03 <sup>ns</sup>	21,01 ± 1,41 <sup>ns</sup>	21,33 ± 1,75 <sup>ns</sup>
Valor calórico (kcal)	9	17,21	19,48	15,98	20,04	18,58

Nota: ns= não significativo; nd= não disponível.

Valores por 100 g de amostra.

Médias na mesma linha com letras iguais não diferem estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ); Médias de três repetições ± DP.

Tabela 7 - Determinações físico-químicas em amostras de alface obtidas pelo sistema de cultivo orgânico na RMC

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças mais presentes na alimentação humana, com consumo predominantemente *in natura* (TRANI et al., 1998) e nestas condições apresenta composição média de 97% de umidade, 9 kcal, 0,6 g de proteína, 1,7 g de carboidratos, 1 g de fibra alimentar, 0,3 g de cinzas, traços de lipídios, 14 mg de cálcio, 6 mg de magnésio, 19 mg de fósforo, 7 mg de sódio e 11 mg de vitamina C (TACO, 2006).

O teor de umidade nas amostras de alface orgânicas analisadas variou de 92,29 ± 0,78% (Produtor 4) à 93,07 ± 1,09 % (Produtor 1), corroborando com os estudos de Stertz (2004) que ao analisar amostras de alface orgânica provenientes da mesma região (RMC) determinou teores de umidade de 94,46 %. Não houve diferença significativa ao nível de 5% ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao teor de umidade entre as alfaces provenientes dos cinco produtores.

Alfaces orgânicas apresentaram teores de umidade superior (95,38%) as alfaces convencionais e hidropônicas, conforme dados publicados em alguns trabalhos (BOURN e PRESCOTT, 2002; AFSSA, 2003; STERTZ 2004) Favaro-Trindade et al. (2007).

As cinzas de um alimento representam o resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica e não tem necessariamente a mesma composição que a matéria mineral presente originalmente nos alimentos, pois pode haver perda por volatilização ou alguma interação entre os constituintes da amostra (CECCHI, 2003). As amostras de alface orgânica apresentaram teor de cinzas de  $0,93 \pm 0,004$  % (Produtor 4) a  $0,98 \pm 0,004$  % (Produtor 3), valor cerca de três vezes superior ao apresentado na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), a qual analisou amostras de alface convencional (TACO, 2006). Segundo Cantwell (2001) o teor de cinzas de alfaces convencionais é de 0,5 g, valor inferior ao teor encontrado após as análises das amostras orgânicas provenientes da RMC.

Os resultados encontrados para matéria seca variaram de  $6,93 \pm 1,09$  % (Produtor 1) à  $7,71 \pm 0,78$  % (Produtor 4), semelhante aos apresentados por Stertz (2004) que determinou 7,68 % de matéria seca em alfaces orgânicos. Na revisão de Bourn e Prescott (2002) os alimentos orgânicos apresentam frequentemente um teor maior em matéria seca do que os convencionais, sendo que os resultados apresentados na Tabela 7 corroboram com esses pesquisadores.

A água e os carboidratos constituem os elementos mais abundantes em frutas e hortaliças (CHITARRA, 1994). O teor de carboidratos encontrados nas amostras de alface foram de  $4,87 \pm 1,08$  % (Produtor 1) a  $5,68 \pm 0,76$  % (Produtor 4). Alfaces provenientes de cultivo hidropônico apresentaram teor médio de 1,8 % de carboidratos totais (OHSE et al., 2001). Oliveira e Marchine (1998) citam teor médio para carboidratos totais de 2,7 % em alfaces cultivados de forma convencional.

Os carboidratos presentes nesses alimentos fornecem para o homem além de energia, teor significativos de fibras insolúveis cuja ação estimula a mobilidade intestinal, aumenta a excreção de ácidos biliares e possui ação hipocolesterolêmica (PIMENTEL, FRANCKI e GOLLUCKE, 2005). Em relação do teor de fibra alimentar (fração solúvel e insolúvel) as amostras de alface apresentaram teores de  $1,93 \pm 0,05$  % (Produtor 1) a  $2,28 \pm 0,23$  % (Produtor 3) valor bastante expressivo diante da recomendação para adultos de consumo de fibras que é de 25 a 30 g/dia. Esses dados assemelham-se aos obtidos por Favaro-Trindade et al. (2007) onde alfaces orgânicas apresentaram 1,57g de

fibras/100 g. Teores inferiores de fibras em amostras de alfaces foram citados por Sgarbieri (1987) onde a alface convencional apresentou teor de 0,7 % de fibra e Ohse (2001) que citou 1,3 % de fibra em alface hidropônica.

Os valores de proteína das amostras de alface orgânico mostraram-se ligeiramente inferiores ao determinado por Stertz (2004), cujo teor de proteína em alface orgânico foi de 1,10 %. Alfaces convencionais apresentaram teor de proteína de 1 % (OLIVEIRA e MARCHINE, 1998; TACO, 2006) a 1,3 (SGARBIERI, 1987).

Avaliando-se a Tabela 7, pode-se perceber que a alface orgânica tende a ter mais fibra e carboidratos totais, e menor teor de lipídios (0,18% a 0,24 %), mantendo o mesmo teor de umidade e proteína conforme dados disponibilizados na Tabela TACO (2006), tornando as alfaces orgânicas analisadas um produto de alta qualidade nutricional.

O pH é um fator intrínseco ao alimento e exerce o maior efeito seletivo sobre a microflora apta a se desenvolver (LEITÃO, 1991). O pH das folhas de alface orgânico variaram de 6,11 a 6,19, faixa bastante adequada para o crescimento de bactérias e fungos. Nas amostras de alface higienizadas analisadas por Menezes, Fernandes e Sabba-Srur (2005) o pH foi de 6,04 a 6,19.

Uma das grandes recomendações para consumo de hortaliças é o teor de vitaminas e minerais presente. A vitamina C (ácido ascórbico) é uma substância redutora facilmente oxidada, que sofre inativação quando exposta ao calor, ar e luz, mas é relativamente estável em meio ácido (LIMA et al., 2001).

É importante salientar que diversos estudos afirmam que alimentos produzidos no sistema orgânico tendem a ter um teor maior de vitamina C (WORTHINGTON, 2001; BOURN e PRESCOTT, 2002; DAROLT, 2003). Esse fato pode ser comprovado nesse trabalho, uma vez que os valores médios encontrados após análise das amostras de alface orgânico foram de  $20,31 \pm 3,2$  m% (Produtor 1) a  $21,33 \pm 1,75$  m% (Produtor 5) e a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos apresenta como valor médio de vitamina C em alface convencional apenas 11 mg /100 g.

Alfaces orgânicas analisadas por Favaro-Trindade et al. (2007) apresentaram 15,3 mg de vitamina C/ 100 g. Sgarbieri (1987) cita valor de vitamina C de 18 mg/ 100 g em alfaces convencionais. No entanto, as amostras

de alface hidropônico analisadas por Ohse (2000) apresentaram teores de vitamina C de 34,1 m% (OHSE, 2000), valores superiores aos encontrados após análises das amostras de alface orgânica da RMC.

Não houve diferença significativa ao nível de 5% ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao teor de umidade, matéria seca, proteína, carboidratos e vitamina C entre as alfaces provenientes dos cinco produtores.

O valor calórico das amostras de alface orgânica analisadas (16,1 à 20,1 kcal/ 100 g) foi sensivelmente superior ao apresentado na Tabela TACO (14 kcal/g). É possível que esse aumento no valor calórico seja devido ao menor teor de umidade apresentado, ocasionado desta forma um produto com maior valor nutricional.

A produção nacional de tomate foi de 3.396000 toneladas (safra 2004-2005) cultivadas em aproximadamente 60 mil hectares, sendo que cerca de 190 mil toneladas foi produzida no Estado do Paraná, ocupando, o sexto lugar no ranking de produção (PARANÁ, 2006).

Constituintes	TACO (2006)	Produtor 6	Produtor 7	Produtor 8	Produtor 9
Umidade (%)	95,1	93,37 $\pm$ 0,72 <sup>ns</sup>	92,90 $\pm$ 0,27 <sup>ns</sup>	92,46 $\pm$ 1,45 <sup>ns</sup>	92,59 $\pm$ 0,41 <sup>ns</sup>
Matéria seca (%)	nd	6,63 $\pm$ 0,72 <sup>ns</sup>	7,10 $\pm$ 0,27 <sup>ns</sup>	7,54 $\pm$ 1,45 <sup>ns</sup>	7,41 $\pm$ 0,41 <sup>ns</sup>
Cinzas (%)	0,5	0,43 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,48 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,43 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,45 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
Proteína (%)	1,1	0,93 $\pm$ 0,05 <sup>ns</sup>	0,90 $\pm$ 0,03 <sup>ns</sup>	0,90 $\pm$ 0,03 <sup>ns</sup>	0,90 $\pm$ 0,02 <sup>ns</sup>
Lipídios (%)	0,2	0,17 $\pm$ 0,03 <sup>ns</sup>	0,14 $\pm$ 0,02 <sup>ns</sup>	0,16 $\pm$ 0,02 <sup>ns</sup>	0,16 $\pm$ 0,03 <sup>ns</sup>
Carboidratos (%)	3,1	5,10 $\pm$ 0,7 <sup>ns</sup>	5,58 $\pm$ 0,21 <sup>ns</sup>	6,05 $\pm$ 1,43 <sup>ns</sup>	5,90 $\pm$ 0,39 <sup>ns</sup>
Fibra alimentar (%)	1,2	1,17 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>	1,09 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,23 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	1,16 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>
pH	nd	4,54 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	4,42 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	4,71 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	4,74 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>
Vitamina C (m%)	21,2	31,10 $\pm$ 0,81 <sup>ns</sup>	32,91 $\pm$ 1,48 <sup>a</sup>	30,82 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	32,43 $\pm$ 1,59 <sup>ns</sup>
Valor calórico (kcal)	15	20,97	22,82	24,32	24,00

Nota: ns= não significativo; nd= não disponível.

Valores por 100 g de amostra.

Médias na mesma linha com letras iguais não diferem estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ); Médias de três repetições  $\pm$  DP.

**Tabela 8 - Determinações físico-químicas em amostras de tomate obtidas pelo sistema de cultivo orgânico na RMC**

O fruto do tomateiro possui em sua composição aproximadamente 93% a 95% de água (SILVA e GIORDANO, 2000) e de acordo com a TACO (2006) o tomate apresenta 95,1 % de umidade. Os tomates orgânicos analisados apresentaram teores de umidade de 92,9  $\pm$  0,27 % (Produtor 7) à 93,37  $\pm$  0,72 % (Produtor 6), conforme apresentado na Tabela 8, corroborando com os dados obtidos por Borguini (2006) cujo tomate orgânico analisado teve teores de

umidade de 93,73 %. Tomates orgânicos comercializados na RMC apresentaram teor de umidade médio de 94,8% g (FERREIRA, 2004).

Segundo a AFSSA (2003), tomates cultivados nos sistemas convencional e orgânico não apresentaram diferença significativa de matéria seca.

O teor de matéria seca nas amostras de tomate analisadas variaram de  $6,63 \pm 0,72$  % (Produtor 6) a  $7,54 \pm 1,45$ % (Produtor 8).

De acordo com o teor de cinzas (0,5 %) registrado na Tabela TACO (2006), pode-se observar que as amostras de tomate analisadas apresentaram teor próximo a esse valor. O teor de cinzas da amostra obtida no produtor 7 ( $0,48 \pm 0,03$  %) diferiu significativamente das demais ( $p \leq 0,05$ ). Valores inferiores (0,38 %) foram encontrados por Ferreira (2004) analisando tomates orgânicos. Lisiewska e Kmiecik (2000) registraram 0,48% de cinzas em tomates no estágio vermelho de maturação.

Segundo Davies e Hobson (1981), tomates possuem 0,2 % de lipídios e 0,8% de proteínas, semelhante aos valores apresentados na Tabela 8, cujo teor de proteínas foi cerca de 0,9 % (Produtor 7, 8 e 9) e 0,16 % de lipídios.

Os tomates analisados revelaram teores de carboidratos variando de  $5,1 \pm 0,7$  % (Produtor 6) à  $6,05 \pm 1,43$  % (Produtor 8), e Salunkhe, Bolin e Reddy (1991) ao analisarem a composição nutricional de tomates obtiveram teor 4,7 % para o mesmo macronutriente.

Os valores de fibras, em tomates orgânico, encontrados por Stertz (2004) foram de 1,10 %, apoiando os resultados obtidos nesta pesquisa (1,09 à 1,23 %). Houve diferença significativamente ( $p \leq 0,05$ ) entre o teor de fibras dos tomates obtidos do produtor 7 e 8.

A modificação da coloração do tomate se deve a degradação da clorofila e dos carotenóides. Com a mudança da cor, inicia-se a maturação, refletindo-se na degradação da clorofila, e no aumento gradual do licopeno (carotenóide), adquirindo assim o fruto a cor vermelha (CHITARRA e CHITARRA, 1990). O pH de tomate é alterado ao longo do amadurecimento, variando de 3,0 (estádio verde) à 4,26 (vermelho) (ANDREUCCETI, 2005). Como os tomates analisados nesse trabalho estavam maduros, caracterizados pela coloração vermelha intensa dos frutos, o pH variou  $4,42 \pm 0,15$  (Produtor 7) a  $4,74 \pm 0,07$  (Produtor 9). Esses valores assemelharam-se aos encontrados por Ferreira (2004) onde os tomates orgânicos apresentaram pH variando de 4,41 a 4,78. Artés, Sánchez

e Tijssens (1998) observaram nas amostras de tomate recém colhidas um pH de 4,05. Lisiewska e Kmiecik (2000) registraram pH de 4,18 em tomates no estágio vermelho de maturação, enquanto que Gómez e Camelo (2002) encontraram um pH entre 4,06 a 4,70. Para Pazinato e Galhardo (1997) o tomate apresenta pH abaixo de 4,5. Os valores médios dos resultados de pH obtidos entre os tomates, entre os estádios de coloração salada, colorido e maduro, ficaram entre 4,15 e 4,28 para o tomate cultivar Carmen (FERRARI, 2006).

Segundo Borguini (2002) as amostras cultivadas no sistema orgânico apresentaram valores mais elevados de pH, quando comparados ao sistema convencional, levando a crer que as amostras cultivadas nesse sistema apresentam menor acidez, característica importante para a aceitação do produto. Gómez et al. (2004) estudaram doze cultivares diferentes e consideraram pH menor ou igual a 4,45 como sendo adequado para promover bom sabor ao tomate. .

Verificou-se que os tomates orgânicos analisados apresentaram teores de vitamina C mais elevados (30,82 à 32,91 m%) quando comparados ao resultados obtidos por Borguini (2005) cujo teor foi de 22,9 m%. Semelhantemente, em um trabalho avaliando a composição físico-química de tomates orgânicos e convencionais ficou evidenciada grande variação no teor de vitamina C, onde a amostra convencional com maior teor de vitamina C apresentou 10,12 m% e a amostra orgânica cujo teor de vitamina C foi de 13,21 m% estavam em estágio de maturação vermelho e vermelho maduro, respectivamente (FERREIRA, 2004). Em tomate cultivado pelo sistema convencional foram encontrados valores inferiores aos determinados nesse trabalho, com média de 21,9 a 28,9 mg (BORGUINI, 2002).

Zambrano, Moyeja e Pacheco (1996), avaliando as características físico-químicas de cultivares de tomates colhidos em diferentes estádios de maturação observaram que frutos colhidos maduros apresentaram maior teor de vitamina C (ZAMBRANO e MOYEJA, 1996).

Premuzic *et al.* 1998, compararam o conteúdo de ácido ascórbico de tomates cultivados com substrato orgânico aos tomates cultivados hidroponicamente e registraram um conteúdo maior de ácido ascórbico para os frutos produzidos mediante utilização de composto orgânico.

Diversos autores relatam que os alimentos produzidos sob sistema orgânico possuem frequentemente teores de vitamina C superiores aos produzidos convencionalmente (CLARKE e MERROW, 1979; MULLER e HIPPE, 1987; LECLERC et al., 1991; BOURN e PRESCOTT, 2002; WILLIAMS, 2002; MAGKOS, ARVANITI e ZAMPELAS, 2003). Nesse trabalho foi possível observar que os teores de vitamina C das amostras de tomate orgânico analisadas estavam acima dos valores obtidos quando se analisou tomates convencionais. Segundo os dados da Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos, tomates possuem 13 m% de vitamina C. Davies e Hobson (1981) obtiveram apenas 5 m% de vitamina C nos tomates analisados, Salunkhe, Bolin e Reddy (1991) citam teores de 23 m% e Borguini (2006) obteve teores de 19,57 m%.

Não houve diferença significativa ao nível de 5% ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao teor de umidade, matéria seca, proteína, lipídios e carboidratos entre as amostras de tomate provenientes dos quatro produtores.

O valor calórico dos tomates orgânicos analisados variaram de 21 kcal/100 g à 24,3 kcal/100 g, corroborando com os dados de Stertz (2004) cujo valor calórico obtido foi de 21 kcal para tomates produzidos sob o mesmo sistema de produção (orgânico).

Conforme dados apresentados na Tabela 9, o teor de umidade das cenouras analisadas variou de  $87,54 \pm 1,23$  % (Produtor 13) a  $88,59 \pm 1,94$  % (Produtor 11) e o de matéria seca de  $11,41 \pm 1,94$  % (Produtor 11) a  $12,46 \pm 1,23$  % (Produtor 13). O teor de umidade citado por Pinedo (2003) foi ligeiramente superior (90,45 %) e o teor de matéria seca mostrou-se abaixo (9,55 %) do que os apresentados na Tabela 9 (PINEDO, 2003). Holland e Welch (1991) trabalharam com cenouras com umidade de 89,9 % e Kiranoudis, Maurolis e Marinos-Kouris (1993) descreveram cenouras com 90 % de umidade.

Constituintes	TACO (2006)	Produtor 10	Produtor 11	Produtor 12	Produtor 13
Umidade (%)	90,1	$87,74 \pm 1,43^{ns}$	$88,59 \pm 1,94^{ns}$	$88,15 \pm 2,02^{ns}$	$87,54 \pm 1,23^{ns}$
Matéria seca (%)	nd	$12,26 \pm 1,44^{ns}$	$11,41 \pm 1,94^{ns}$	$11,83 \pm 2,02^{ns}$	$12,46 \pm 1,23^{ns}$
Cinzas (%)	0,9	$1,11 \pm 0,05^{ns}$	$1,12 \pm 0,05^{ns}$	$1,07 \pm 0,04^{ns}$	$1,11 \pm 0,04^{ns}$
Proteína (%)	1,3	$1,40 \pm 0,06^{ns}$	$1,40 \pm 0,02^{ns}$	$1,43 \pm 0,05^{ns}$	$1,46 \pm 0,06^{ns}$
Lipídios (%)	0,2	$0,26 \pm 0,03^{ns}$	$0,26 \pm 0,02^{ns}$	$0,30 \pm 0,02^{ns}$	$0,29 \pm 0,02^{ns}$
Carboidratos (%)	7,7	$9,49 \pm 0,57^{ns}$	$8,63 \pm 1,50^{ns}$	$9,05 \pm 0,96^{ns}$	$9,60 \pm 0,51^{ns}$
Fibra alimentar (%)	3,2	$3,58 \pm 0,38^{ns}$	$3,57 \pm 0,48^{ns}$	$3,87 \pm 0,24^{ns}$	$3,93 \pm 0,24^{ns}$



pH	nd	6,29 ± 0,14 <sup>a</sup>	5,98 ± 0,08 <sup>b</sup>	5,82 ± 0,17 <sup>b</sup>	6,27 ± 0,12 <sup>a</sup>
Vitamina C (m%)	5,1	6,13 ± 0,21 <sup>a</sup>	6,91 ± 0,21 <sup>b</sup>	5,93 ± 0,65 <sup>a</sup>	6,01 ± 0,24 <sup>a</sup>
Valor calórico (kcal)	34	31,58	28,18	29,14	31,13

Nota: ns= não significativo; nd= não disponível.

Valores por 100 g de amostra.

Médias na mesma linha com letras iguais não diferem estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ); Médias de três repetições ± DP.

Tabela 9 - Determinações físico-químicas em amostras de cenoura obtidas pelo sistema de cultivo orgânico na RMC

Segundo Pinedo (2003), cenouras possuem 0,55 % de cinzas, valor cerca de 50% inferior ao observado nesse trabalho quando analisou-se cenouras orgânicas produzidas na RMC. As cinzas em alimentos referem ao resíduo inorgânico remanescente da queima da matéria orgânica e sua composição corresponde à quantidade de substâncias minerais presentes nos alimentos (CHAVES et al., 2004).

No trabalho desenvolvido por Carvalho (2004) as cenouras provenientes de cultivo convencional (1,08%) apresentaram teor de cinzas superiores as cenouras orgânicas (0,94%).

Segundo dados da Tabela de Composição Nutricional de Hortaliças elaborada pela Embrapa Hortaliças (LUENGO et al., 2000) a cenoura possui 1,03 % de proteína, 10,14 % de carboidratos, 3 % de fibras e 0,19 % de lipídeos. Com base nesses dados, as amostras de cenoura orgânicas analisadas nesse trabalho apresentaram discreta superioridade nos teores fibras, proteína e lipídeos, e teor de carboidratos inferior.

Ao comparar os dados obtidos nesse trabalho e disponibilizados na Tabela 9, com os dados de Stertz (2004) após determinações físico-químicas em cenouras orgânicas, pode-se perceber que as amostras analisadas nesse trabalho apresentaram teores superiores para proteína, lipídios, carboidratos e fibras.

O pH dos tecidos vegetais situa-se entre 5 - 7, faixa bastante adequada para crescimento de bactérias e fungos (MENEZES, FERNANDES e SABBA-SRUR, 2005). O pH das cenouras orgânicas assemelhou-se ao citado por Lima e Pinheiro (2003) e Stertz (2004). Cenouras irradiadas apresentaram pH variando de 6,62 a 6,84 (LIMA et al., 2003).

A cenoura destaca-se como uma olerícola com vantagens agroeconômicas e ambientais, possuindo elevado valor nutricional, contribuindo

primariamente com vitaminas e sais minerais (ANDRADE et al., 2001; BEZERRA NETO et al., 2003). De acordo com a Tabela TACO, cenouras possuem 5,1 m% de vitamina C. Com exceção da cenoura proveniente do produtor 11, que diferiu significativamente das demais ( $p \leq 0,05$ ) o teor de vitamina C nas cenouras orgânicas analisadas mostraram-se superiores, variando de  $5,93 \pm 0,65$  m% (Produtor 12) a  $6,91 \pm 0,21$  m% (Produtor 11). Segundo dados obtidos no trabalho desenvolvido na cidade de Truro nos Estados Unidos, o teor de vitamina C em cenouras orgânicas (21,5 m%) foi superior aos obtidos na cenoura convencional (16,9 mg/100g) (WARMAN e HAVARD, 1997).

Não houve diferença significativa ao nível de 5% ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao teor de umidade, matéria seca, cinzas, proteína, lipídios, carboidratos e fibra alimentar entre as amostras de cenoura provenientes dos quatro produtores.

Segundo dados da literatura o valor calórico de 100 g de cenoura oscila entre 30 kcal (HOLLAND et al., 1991) a 34 kcal (TACO, 2006), similar ao valor encontrado após as análises físico-químicas das cenouras orgânicas (28,2 a 31,6 kcal/100 g).

## 5 CONCLUSÃO

Os produtores orgânicos da região de São Jose dos Pinhais e Colombo, que colaboraram no desenvolvimento desse estudo através da doação de hortaliças orgânicas, revelaram que a produção era feita em escala familiar, em pequenas propriedades com média de 7,4 ha, e produziam organicamente há 4 anos, tendo suas propriedades certificadas há 3 anos.

Em função das hortaliças serem produzidos sob variadas condições climáticas e edáficas utilizando-se de distintas tecnologias, em propriedades de diferentes tamanhos, torna-se claro que haja variação nos perigos microbiológicos, químicos e físicos de um sistema para outro. Embora haja uma escassez de estudos avaliando a qualidade sanitária de alimentos produzidos no sistema orgânico, o foco desse trabalho foi o de ressaltar a importância da adoção de procedimentos que assegurem a qualidade sanitária e nutricional das hortaliças produzidas nos diferentes sistemas de cultivo empregados no País.

A qualidade sanitária das amostras de alface e cenoura orgânicas foi inferior às amostras de tomate analisadas, uma vez que as primeiras apresentaram contagens de coliforme de origem fecal e *Salmonella sp* superiores ao tolerado pela legislação brasileira, bem como foi detectado presença de estruturas parasitárias. A contaminação dessas hortaliças pode ter ocorrido através do uso de água de irrigação contaminada, presença de animais silvestres ou domésticos, solo contaminado ou emprego de adubos sem tempo de compostagem adequado.

As hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba mostraram contaminações microbiológicas e parasitárias, as quais poderiam resultar em riscos a saúde do consumidor e onerar ainda mais o sistema de Saúde Pública. Desta forma, os dados desse trabalho se tornam relevante uma vez que podem respaldar as ações da Vigilância Sanitária de forma que esse órgão possa ter uma ação fiscalizadora mais rigorosa e que assegure a Segurança Alimentar.

Em relação à qualidade nutricional das hortaliças orgânicas analisadas nesse trabalho, foi possível verificar uma tendência no que se refere ao maior valor energético, menor teor de umidade, maior teor de matéria seca e vitamina C em comparação aos dados disponibilizados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

Ao comparar os resultados, ainda que preliminares, da qualidade sanitária de hortaliças orgânicas da Região Metropolitana de Curitiba-PR com dados presentes na literatura, pode-se constatar que o modo de produção, convencional ou orgânico, não interfere preponderantemente na qualidade desses alimentos, e sim que práticas inadequadas de produção aumentam significativamente as chances de contaminação.

## REFÊRENCIAS

- ABNT. **Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em alimentos - determinação do número mais provável.** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas, MB nº 3463, 1991.
- ABREU, I.M.O. **Produtividade e qualidade microbiológica de alfaces sob diferentes fontes de adubos orgânicos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade de Brasília, Brasília. 81 p., 2008.
- AFSSA. **Evaluation des risques et bénéfices nutritionnels et sanitaires des aliments issus de l'Agriculture biologique.** Paris: AFSSA. 131 p. 2003.
- ALMEIDA FILHO, P.C. **Avaliação das condições ambientais e higiênico-sanitárias na produção de hortaliças folhosas no núcleo hortícola suburbano de Vargem Bonita, Distrito Federal.** Dissertação (Mestrado em Planejamento e Gestão Ambiental). Universidade Católica de Brasília, Brasília. 103 p., 2008.
- ALTMANN, R.; OLTRAMARI, A.C. **A agricultura orgânica na região da Grande Florianópolis: indicadores de desenvolvimento.** Florianópolis: Instituto Cepa. 181 p. 2004.
- ALVES, S.L.C.; NEVES, M.C.P.; COSTA, J.R. **Avaliação da contaminação microbiológica de alface orgânica e convencional em diferentes pontos de comercialização.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 1-4 p. 2007
- AMAHMID, O.; ASMAMA, S.; BOUHOUM, K. The effect of waste reuse in irrigation on the contamination level of food crops by Giardia cysts and Ascaris eggs. **International Journal of Food Microbiology**, v.49, p.19-26, 1999.
- ANDRADE, F.V.; SANTOS JÚNIOR, J.J.; BEZERRA NETO, F.; NEGREIROS, M.Z. Desempenho de quatro cultivares de alface lisa em cultivo solteiro e consorciado com cenoura em dois sistemas de cultivos em faixas. **Horticultura Brasileira**, v.19, n.2, p.7, 2001.
- ANDREUCCETI, C. **Avaliação da qualidade do tomate de mesa tratado com gás etileno.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 154 p., 2005.
- ANVISA. **Resolução CNNPA n. 12 de 1978.** Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=16216&word>. Acesso em 12 de abril de 2006.
- \_\_\_\_\_. **RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 - Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos.** Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm) >. Acesso em 10 de junho de 2005.
- AOAC. **Association Of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC international.** Gaithersburg: AOAC International. 17 ed. 2000.
- APHA. Technical committee on microbiological methods for food. In: VANDERZANT, C. e SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** Washington: American Public Health Association, 3 ed., p.336-383, 1992

- ARAUJO, G.S.; FONSECA, V.M.; ARAUJO, F.G.O. **A agricultura alternativa como fonte de geração de renda e preservação ambiental.** Disponível em: <<http://www.igeo.uerj.br>>. Acesso em 20 de maio de 2005.
- ARBOS, K.A. **Estudo do potencial antioxidante de vegetais da família Cruciferae de diferentes cultivos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas.).Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 87 p. p., 2004
- ARTÉS, F.; SÁNCHEZ, E.; TIJSKENS, L.M.M. Quality and shelf life of tomatoes improved by intermittent warming. . **Lebensm Wiss u-Technol**, v.31, p.427-431, 1998.
- ASSIS, R.L. Globalização, desenvolvimento sustentável e ação local: o caso da agricultura orgânica. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v.20, n.1, p.79-96, 2003.
- AZEVEDO, E. **As relações entre qualidade de vida e agricultura familiar orgânica: da articulação de conceitos a um estudo exploratório.** Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 123 p., 2004
- BARUFALDI, R.; PENNA, T.C.V.; MACHOSHVILI, J.A.; EIKA, A.L. Tratamento químico de hortaliças poluídas. **Revista de Saúde Pública de São Paulo**, v.18, p.225-234, 1984.
- BEZERRA NETO, F.; ANDRADE, F.V.; NEGREIROS, M.Z.; SANTOS JÚNIOR, J.S. Desempenho agroeconômico do consórcio cenoura x alface lisa em dois sistemas de cultivo. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.4, p.635-641, 2003.
- BONILLA, J.A. **Fundamentos da agricultura ecológica: sobrevivência e qualidade de vida.** São Paulo: Nobel. 1 ed. 260 p. 1992.
- BORGUINI, R.G. **Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) orgânico: o conteúdo nutricional e a opinião do consumidor.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo. 110 p., 2002
- \_\_\_\_\_. **Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físico-química do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação ao convencional.** Tese (Doutorado em Saúde Pública). Universidade de São Paulo, São Paulo. 178 p., 2006
- BOURN, D.; PRESCOTT, J. A comparasion of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced food. **Crit. Rev. Food Science Nutrition**, v.42, n.1, p.1-34, 2002.
- BRASIL. **Instrução Normativa Nº 007, de 17 de maio de 1999.** Disponível em:<<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=1662>>. Acesso em 16 de dezembro de 2004.
- \_\_\_\_\_. **Lei n.º 10.831, de 23 de dezembro de 2003.** Disponível em: <[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/2003/L10.831.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/2003/L10.831.htm)>. Acesso em: 25 de abril de 2005.

- BUAINAIN, A.M.; BATALHA, M.O. **Cadeia produtiva de produtos orgânicos** Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura. 108 p. 2007.
- CALDAS, A.F.A. Estudo preliminar da avaliação da carga parasitológica e microbiológica de hortaliças produzidas. . **Boletim de Divulgação Técnica e Científica** v.3, p.7-13, 2000.
- CALDAS, E.D.; SOUZA, L.C.K. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.5, p.529-37, 2000.
- CAMARGO, A.M.; MOURA, B.R.; LIMA, E.; CASTELETTI, L.C.; WILDNER, M.; CHAUDHRY, Z. **Agricultura orgânica**. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/reportagens/organica/organica12.htm>>. Acesso em 31 de mar de 2005.
- CAMARGO FILHO, W.P.; CAMARGO, F.P.; CAMARGO, A.M.M.P.; ALVES, H.S. Algumas considerações sobre a construção da cadeia de produtos orgânicos. **Informações Econômicas**, v.34, n.2, p.55-69, 2004.
- CAMPANHOLA, C.; VALARINI, P.J. A agricultura orgânica e seu potencial para o pequeno agricultor. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v.18, n.3, p.69-101, 2001.
- CAMPOS, M.C. **Territorialização da agricultura orgânica no Paraná: preservando o meio ambiente e produzindo alimentos saudáveis**. Disponível em: <<http://www.igeo.uerj.br/VICBG-2004/Eixo1/e1%20279.htm>>. Acesso em 18 de abril de 2005.
- CANTOS, G.A.; NOLLA, A.C.; MALISKA, C. Ocorrência de enteroparasitas em hortaliças. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, v.35, p.8b, 2003.
- CANTOS, G.A.; SOARES, B.; MALISKA, C.; GICK, D. Estruturas Parasitárias Encontradas em Hortaliças Comercializadas em Florianópolis, Santa Catarina. **NewLab**, v.66, p.154-163, 2004.
- CANTWELL, M. Manejo pós colheita de frutas e verdura de palma forrageira. In: BARBERA, G., et al. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Paraíba: SEBRAE, p.123-139, 2001.
- CARIS-VEYRAT, C.; AMIOT, M.J.; TYSSANDIER, V.; GRASSELLY, D.; BURET, M.; MIKOLAJCZAK, M.; GUILLAND, J.C.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; BOREL, P. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. **J. Agric. Food Chem**, v.52, n.21, p.6503-6509, 2004.
- CARMO, M.S.D. A produção familiar como locus ideal da agricultura sustentável. In: FERREIRA, A. D. D. e BRANDENBURG, A. **Para pensar outra agricultura**. Curitiba: Editora da UFPR, 1998
- CARVALHO, A.M. **Produtividade, qualidade e análise sensorial de genótipos de cenoura cultivados em sistema orgânico e convencional, no Distrito Federal**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade de Brasília, Brasília. 109 p., 2004

- CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. Campinas: Unicamp. 207 p. 2003.
- CERRI, C. Algo mais que adeus. **Globo Rural**, n.177, p.8-13, 2000.
- CGPAN. **Segurança Alimentar e Nutricional**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/alimentacao>>. Acesso em 01 de junho de 2005.
- CHAIM, C. Mercado de produtos orgânicos cresce 50% ao ano e desperta o interesse de empresas estrangeiras. **Istoé**, v.04, p.72-73, 2002.
- CHAVES, M.C.V.; GOUVEIA, J.P.G.; ALMEIDA, F.A.C.; LEITE, C.A.; SILVA, F.L.H. Caracterização físico-química do suco da acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.4, n.2, p.1-10, 2004.
- CHINNICI, G.; DÁMICO, M.; PECORINO, B. A multivariate statistical analysis on the consumers of organic products. **British Food Journal**, v.104, n.3, p.187-199, 2002.
- CHITARRA, M.I.F. Colheita e qualidade pós-colheita de frutos. **Informe Agropecuário**, v.17, n.179, p.8-18, 1994.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.D. **Pós-colheita de frutos e hortaliças, fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL-FAEPE. 2393 p. 1990.
- CIDADE JUNIOR, H.A. **A agricultura orgânica na região metropolitana de Curitiba: fatores que afetam seu desenvolvimento**. Dissertação (Mestrado Agronomia - Produção Vegetal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 183 p., 2008
- CLARKE, R.P.; MERROW, S.B. Nutrient composition of tomatoes homegrown under different cultural procedures. **Ecology Food Nutr.**, v.8, p.37-46, 1979.
- DAROLT, M.R. **As dimensões da sustentabilidade: um estudo da agricultura orgânica na Região Metropolitana de Curitiba**. Tese (Doutorado em Meio Ambiente e Desenvolvimento). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 309 p., 2000
- \_\_\_\_\_. **Agricultura orgânica: inventando o futuro**. Londrina: IAPAR. 250 p. 2002.
- \_\_\_\_\_. Comparação entre a qualidade do alimento orgânico e a do convencional. In: STRINGHETA, P. C. e MUNIZ, J. N. **Alimentos orgânicos: produção, tecnologia e certificação**. Viçosa: Editora UFV, p.289-312, 2003
- DAVIES, J.N.; HOBSON, G.E. The constituents of tomato fruit – the influence of environment, nutrition and genotype. **CRC Critical Review of Food Science Nutrition**, v.15, p.205-280, 1981.
- DIMBERG, L.H.; GISSEN, C.; NILSSON, J. Phenolic compounds in oat grains (*Avena sativa* L.) grown in conventional and organic systems. **Ambio**, v.34, n.4-5, p.331-7, 2005.
- DUCASSE-COURNAC, A.M.; LECLERC, B.; TAUPIER-LETAGE, B. La qualité en agriculture biologique: mythe ou réalité? **Alternative Agriculture**, n.45, p.10-12, 2001.
- DULLEY, R.D. Agricultura orgânica, biodinâmica, natural, agroecológica ou ecológica? **Informações Econômicas**, v.33, n.10, p.96-99, 2003.



- ERDOGRUL, O.; SENER, H. The contamination of various fruit and vegetable with *Enterobius vermicularis*, *Ascaris* eggs, *Entamoeba histolyca* cysts and *Giardia* cysts. **Food Control**, v.16, p.559-562, 2005.
- FALAVIGNA, L.M.; FREITAS, C.B.R.; MELO, G.C.; NISHI, L.; ARAÚJO, S.M.; FALAVIGNA-GUILHERME, A.L. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná. **Brasil. Parasit. Latinoam.**, v.60, p.144-149, 2005.
- FAO. **Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030**. Informe resumido 97 p. 2002.
- \_\_\_\_\_. **Food safely and quality as affected - the status of organic agriculture in Europe**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em 20 de março de 2004.
- FARIA, M.I.; FALCÃO, C.A.C.; TÓRTORA, J.C.O. Contaminação microbiana e melhoria do sistema produtivo de alfaces (*Lactuca sativa*), de cultivo tradicional e hidropônico, no Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, v.19, n.133, p.104-109, 2005.
- FAVARO-TRINDADE, C.S.; MARTELLO, L.S.; MARCATTI, B.; MORETTI, T.S.; PETRUS, R.R.; ALMEIRDA, E.; FERRAZ, J.B.S. Efeito dos Sistemas de Cultivo Orgânico, Hidropônico e Convencional na Qualidade de Alface Lisa. **Braz. J. Food Technol.**, v.10, n.2, p.111-115, 2007.
- FERRARI, P.R. **Avaliação da qualidade da classificação do tomate de mesa**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 161 p., 2006
- FERREIRA, S.M. **Características de qualidade do tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* mill.) cultivado nos sistemas convencional e orgânico comercializado na Região Metropolitana de Curitiba**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 249 p., 2004.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**. Viçosa: UFV. 2 ed. 412 p. 2005.
- FREITAS, A.A.; KWIATKOWSKI, A.; NUNES, S.C.; SIMONELLI, M.; SANGIONI, L.A. Avaliação parasitológica de alfaces comercializados em feiras livres e supermercados do município de Campo Mourão, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.26, n.4, p.381-384, 2004.
- FREWER, L.; SHEPHERD, D.; SPARKS, P. The interrelationship between perceived knowledge, control and risk associated with a range of food-related hazards targeted at the individual, other people and society. **Journal Food Safety**, v.4, n.8, p.19-40, 1994.
- GARCIA, J.L.; JAHN, T.R.; FERMO, E.É.; NEVES, U.S.; PURETZ, E. Evaluation of helminthes and protozoa in raw vegetables produced in Umuarama, Paraná State. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v.7, p.7-10, 2004.
- GELLI, D.S.; TACHIBANA, T.; OLIVEIRA, I.R.; ZAMBONI, C.Q.; PACHECO, J.A.; SPIRERI, N. Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.39, p.37-43, 1979.
- GIORDANO, S.R.; KRUGLIANSKAS, I. Gestão internacional das redes orgânicas certificadas. **Informações Econômicas**, v.34, n.4, p.45-56, 2004.

- GÓMEZ, P.A.; CAMELO, A.F.L. Calidad postcosecha de tomates almacenados em armósferas controladas. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.1, p.38-43, 2002.
- GÓMEZ, R.; COSTA, J.; AMO, M.; ALVARRUIZ, A.; PICAZO, M.; PARDO, J.E. Physicochemical and colorimetric evaluation of local varieties of tomato grow in SE Spain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, p.1101-1105, 2004.
- GRILLO, L.P.; CARVALHO, L.R.; SILVA, A.C.; VERRESCHI, I.T.N.; SAWAYA, A.L. Influência das condições sócio-econômicas nas alterações nutricionais e na taxa de metabolismo de repouso em crianças escolares moradoras em favelas do município de São Paulo. **Rev. Assoc. Méd. Bras.**, v.46, n.1, p.7-14, 2000.
- GUANZIROLI, C.E.; CARDIM, S.E.C.S. **Novo retrato da agricultura familiar: o Brasil redescoberto**. Brasília: INCRA/FAO. 74 p. 2000.
- GUERREIRO, M.G. **Bacteriologia especial de interesse em saúde animal e saúde pública**. Porto Alegre: Sulina. 492 p. 1984.
- GUILHERME, A.L.F.; ARAUJO, S.M.; FALAVIGNA, D.L.M.; PUPULIM, R.T.; DIAS, M.L.G.; OLIVEIRA, H.S.; MAROCO, E.; FUKUSHIGUE, Y. Prevalência de enteroparasitas em horticultores e hortaliças da feira do produtor de Maringá, Paraná. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, n.4, p.405-411, 1999.
- HAJSLOVA, J.; SCHULZOVA, V.; SLANINA, P.; JANNE, K.; HELLENAS, K.E.; ANDERSSON, C. Quality of organically and conventionally grown potatoes: four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymic browning and organoleptic properties. **Food Addit Contam**, v.22, n.6, p.514-34, 2005.
- HAMERSCHMIDT, I. **Panorama geral: os números da agricultura orgânica hoje destacando o Paraná**. Disponível em: <http://www.planetaorganico.com.br/trabiniberto.htm>. Acesso em 20 de abril de 2005.
- HOLLAND, B.; WELCH, A.A.; UNWIN, I.D.; BUSS, D.H.; PAUL, A.A.; SOUTHGATE, D.A.T. **The composition of foods**. . Cambridge: Royal Society of Chemistry. 5 ed. 462 p. 1991.
- IBGE. **IBGE - Censo 2000- Condição de vida**. Disponível em: <http://wwwl.ibge.br/ibge/estatistica/populacao/condicaodevida/indicadoresminimos/tabela3.shtm>. Acesso em 10 de janeiro de 2009.
- IPARDES. **Mercado de Orgânicos no Paraná – Caracterização e Tendências**. Disponível em: <http://www.ipardes.gov.br/>. Acesso em: 26 de abril de 2007.
- \_\_\_\_\_. **Indicadores selecionados - Paraná**. Disponível em: [http://www.ipardes.gov.br/pdf/indices/indicadores\\_selecionados.pdf](http://www.ipardes.gov.br/pdf/indices/indicadores_selecionados.pdf). Acesso em 10 de janeiro de 2009.
- KARAM, K.F.; ZOLDAN, P. **Comercialização e consumo de produtos agroecológicos: pesquisa dos locais de venda, pesquisa do consumidor**. Florianópolis: Instituto Cepa. 51 p. 2003.
- KIRANOUDIS, C.T.; MAUROLIS, Z.B.; MARINOS-KOURIS, D. Mass transfer model building in drying. **Drying Technology**, v.11, n.6, p.1251-1270, 1993.

- KOZAN, E.; GONENC, B.; SARIMEHMETOGLU, O.; AYCICEK, H. Prevalence of helminth eggs on raw vegetables used for salads. **Food Control**, v.16, p.239-242, 2005.
- LECLERC, J.; MILLER, M.L.; JOLIET, E.; ROCQUELIN, G. Vitamin and mineral contents of carrot and celeriac under mineral or organic fertilization **Biol. Agric. Hort.**, v.7, p.349-361, 1991.
- LEITÃO, M.F.F. Microbiologia de sucos, polpas e produtos ácidos. In: LEITÃO, M. F. F. **Industrialização de Frutas**. . Campinas: Manual Técnico do Ital, p.33-52, 1991
- LIMA, K.S.C.; GROSSI, J.L.S.; LIMA, A.L.S.; ALVES, P.F.M.P.; CONEGLIAN, R.C.C.; GODOY, R.L.O.; SABBA-SRUR, A.U.O. Efeito da irradiação ionizante na qualidade pós colheita de cenouras Nantes. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.21, n.2, p.202-208, 2001.
- LIMA, K.S.C.; LIMA, A.L.S.; LUCHESE, R.H.; GODOY, R.L.O.; SABBA-SRUR, A.U.O. Cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosfera modificada e tratadas com radiação gama: avaliação microbiológica, físico-química e química. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, n.2, p.240-250, 2003.
- LISIEWSKA, Z.; KMIECIK, W. Effect of storage period and temperature on the chemical composition and organoleptic quality of frozen tomato cubes. **Food Chemistry**, v.70, n.2, p.167-173, 2000.
- LOTTO, M.C.; VALARINI, P.J. Avaliação da contaminação de coliformes fecais em alface (*Lactuca sativa*), água de irrigação e lavagem em sistemas de produção orgânica e convencional. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, p.1625-1628, 2007.
- LUENGO, R.F.A.; PARMAGNANI, R.M.; PARENTE, M.R.; LIMA, M.R.B.F. **Tabela de composição nutricional das hortaliças**. Brasília: EMBRAPA HORTALIÇAS. 4 p. 2000.
- LUNARDON, M.T. **PR: expansão da agricultura orgânica no Estado segue tendência mundial**. Disponível em: [http://www.paginarural.com.br/noticias\\_detalhes.php?id=105694](http://www.paginarural.com.br/noticias_detalhes.php?id=105694). Acesso em 10 de março de 2009.
- LUTZ, I.A. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físicos e químicos para análise de alimentos**. São Paulo: IAL. 4 ed. 533 p. 2005.
- MACHADO, D.C. Verificação da presença de bactérias indicadoras da contaminação fecal em hortaliças orgânicas produzidas de abril a julho de 2001 na escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.33, n.3, p.329-338, 2004.
- MACHADO, D.C.; MAIA, C.M.; CARVALHO, I.S.; SILVA, N.F.; ANDRE, M.C.D.P.B.; SERAFINI, A.B. Microbiological quality of organic vegetable produced in soil treated with different types of manure and mineral fertilizer. **Brasilian Journal of Microbiology**, v.27, p.538-544, 2006.
- MACHADO, F.; CORAZZA, R. Desafios tecnológicos, organizacionais e financeiros da agricultura orgânica no Brasil. **Revista de la Facultad de Ecominía**, v.26, p.21-40, 2004.

- MACKENZIE, W.R.; SCHELL, W.L.; BLAIR, K.A. Massive outbreak of waterborne cryptosporidium infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. **Clin. Infect. Dis.**, v.21, p.57-62, 1995.
- MAGKOS, F.; ARVANITI, F.; ZAMPELAS, A. Organic food: nutritious food or food for thought? A review of the evidence. **Int J Food Sci Nutr**, v.54, n.5, p.357-71, 2003.
- \_\_\_\_\_. Organic food: buying more safety or just peace of mind? A critical review of the literature. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v.46, n.1, p.23-56, 2006.
- MAISTRO, L.C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v.14, n.3, p.219-224, 2001.
- MARZOCHI, M.C. Estudo dos fatores envolvidos na disseminação das enteroparasitas. II – Estudo da contaminação de verduras e solo de hortas na cidade de Riberão Preto, São Paulo, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop**, v.19, n.148-155, 1977.
- MARZOCHI, M.C.A. Estudo dos fatores envolvidos na disseminação das enteroparasitas. I – Estudo da poluição por cistos e ovos de enteroparasitas em córregos da cidade de Riberão Preto, São Paulo, Brasil. São Paulo. **Rev. Inst. Med. Trop**, v.12, n.4, p.249–256, 1970.
- MAZZOLENI, E.M.; NOGUEIRA, J.M. Agricultura orgânica: características básicas do seu produtor. Brasília. **Rev. Econ. Sociol. Rural.**, v.44, n.2, 2006.
- MELO, G.C.; NISHI, L.; FALAVIGNA, D.L.M.; DIAS, M.L.G.; PUPULIN, A.R.T.; GUILHERME, A.L.F. Inquérito parasitológico em hortaliças provenientes das chácaras do município de Maringá, Paraná. **Arq. Apadec**, v.8, p.115, 2004.
- MENEZES, E.M.S.; FERNANDES, E.C.; SABBA-SRUR, A.U.O. Folhas de alface lisa minimamente processadas armazenadas em atmosfera modificada: análises físicas, químicas e físico-químicas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.1, p.60-62, 2005.
- MESQUITA, V.C.L.; SERRA, C.M.B.; BASTOS, O.M.P.; UCHOA, C.M.A. Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, n.4, 1999.
- MIYAZAWA, M.; KHATOUNIAN, C.A.; ODENATH, P.L.A. Teor de nitrato nas folhas de alface produzidas em cultivo convencional, orgânico e hidropônico. **Agroecologia Hoje**, v.7, p.23, 2001.
- MONTANHER, C.C.; CORADIN, D.C.; SILVA, S.E.F. Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializados em restaurantes self-service por quilo, da cidade de Curitiba, Paraná, Brasil. **Estud. Biol.**, v.29, n.66, p.63-71, 2007.
- MORENO, J.L.; ALTIERI, M.A. **Manejo y diseño de sistemas agrícolas sustentables**. Madrid: Hojas divulgadoras. 1994.
- MULLER, K.; HIPPE, J. Influence of differences in nutrition on important quality characteristics of some agricultural crops. **Plant and Soil**, v.100, p.35-45, 1987.

- NASCIMENTO, M.S.; SILVA, N.; CATANOZI, M.P.L.M. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas comercializadas no município de Campinas, SP. **Higiene Alimentar**, v.17, n.114-115, p.73-76, 2003.
- NATURAL RURAL. **Agricultura sustentável: pontos para reflexão**. Disponível em: <<http://www.naturalrural.com.br>>. Acesso em 10 de maio de 2005.
- NETA, R.X.B.; HOLLAND, N.; CHAVES, K.S.F.S.; DAMASCENO. Análise dos perigos e pontos críticos de controle durante o preparo da alface servida no restaurante universitário da UFRN. **Higiene Alimentar**, v.18, n.126-127, p.36-43, 2004.
- NGUZ, K.; SHINDANO, J.; SAMAPUNDO, S.; HUYGHEBAERT, A. Microbiological evaluation of fresh-cut organic vegetable produced in Zâmbia. **Food Control**, v.16, p.623-628, 2005.
- NICHOLSON, F.A.; CHAMBERS, B.J.; MOORE, A.; NICHOLSON, R.J.; HICKMAN, G. Assessing and managing the risks of pathogen transfer from livestock manures into the food chain. **Water and Environment Journal**, v.18, n.3, p.155-160, 2004.
- OHSE, S. Qualidade nutricional e acúmulo de nitrato em alface hidropônica. . In: SANTOS, O. **Hidroponia da alface**. Santa Maria: Imprensa Universitária UFSM, p.10-24, 2000
- OHSE, S.; DOURADO NETO, D.; MANFRON, P.A.; SANTOS, O.S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.181-185, 2001.
- OKURA, M.H.; MARIANO, A.M.S.E.; TEIXEIRA, A.N.S. Eficiência de sanitizantes no tratamento “minimamente processado” de alface cultivada em meio hidropônico. **Higiene Alimentar**, v.20, n.142, p.105-113, 2006.
- OLIVEIRA, C.A.F.; GERMANO, M.L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, Brasil. Pesquisa de helmintos. **Revista de Saúde Pública**, v.26, n.4, p.283-289, 1992a.
- \_\_\_\_\_. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, Brasil. Pesquisa de protozoários intestinais. **Revista de Saúde Pública**, v.26, n.5, p.332-335, 1992b.
- OLIVEIRA, J.E.D.; MARCHINE, J.S. **Ciências nutricionais**. . São Paulo: Sarvier 403 p. 1998.
- OLTRAMARI, A.C.; ZOLDAN, P.; ALTMANN, R. **Agricultura orgânica em Santa Catarina**. Florianópolis: Instituto Cepa. 55 p. 2002.
- OPAS/OMS. **Estratégias para fomentar a promoção da proteção de alimentos através da participação comunitária**. São Paulo: Organização Pan-Americana de Saúde. 2001.
- ORMOND, J.G.P.; PAULA, S.R.L.; FAVARET, P.F.; ROCHA, L.T.M. **Agricultura orgânica: quando o passado é futuro**. Rio de Janeiro: BNDES Setorial. 34p. p. 2002.
- PARANÁ. **Levantamento da produção agrícola municipal das principais culturas da safra 2004/2005**. Disponível em: <http://www.pr.gov.br/seab/deral/lpa0405.xls>. Acesso em 18 de dezembro de 2006.

- PAULA, P.; RODRIGUES, P.S.S.; TÓRTORA, J.C.O.; UCHÔA, C.M.A.; S., F. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.4, 2003.
- PAZINATO, B.C.; GALHARDO, R.C. **Processamento artesanal do tomate**. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. 30 p. 1997.
- PENTEADO, S.R. Introdução a agricultura orgânica. In. Campinas: Ed. Grafimagem, p.110, 2000
- PERES, J.R. Ciência do solo e qualidade de vida. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira para a conservação do solo.**, v.24, n.3, p.1-11, 1999.
- PIMENTEL, B.M.V.; FRANCKI, M.; GOLLUCKE, B.P. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Editora Varela. 2005.
- PINEDO, A.A. **Secagem a vácuo de cenoura e abóbora: estudo das características do processo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 195 p., 2003
- PINHEIRO, G.S.R. **Agricultor familiar e projeto agroecológico de vida**. Dissertação (Mestrado em Sociologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 134 p., 2004
- PREMUZIC, Z.; BARGIELA, M.; GARCIA, A.; RENDINA, A.; IORIO, A. Calcium, iron, potassium, phosphorus, and vitamin C content of organic and hydroponic tomatoes. **HortScience**, v.33, n.2, p.255-257, 1998.
- PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico de pragas e doenças**. São Paulo: Nobel. 1 ed. 137 p. 1988.
- PROSKY, L.; ASP, G.N.; SCHWEIZER, T.F.; DERIVES, J.W.; FURDA, I. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. . **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v.75, p.360-367, 1992.
- REN, H.; ENDO, H.; HAYASHI, T. Antioxidative and antimutagenic activities and polyphenol content of pesticide-free and organically cultivated green vegetable using water-soluble chitosan as a soil modifier ad leaf surface spray. **Journal of the Science Food and Agriculture.**, v.81, p.1426-1432, 2001.
- REZENDE, C.L.; FARINA, E.M.M.Q. Assimetria Informacional no Mercado de Alimentos Orgânicos. **Seminário Brasileiro da Nova Economia Institucional**, v.1, 2001.
- ROCHA, A.; MENDES, R.A.; BARBOSA, C.S. *Strongyloides* spp e outros parasitos encontrados em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializados na cidade do Recife, PE. **Revista de Patologia Tropical**, v.37, n.2, p.151-160, 2008.
- ROMERO, A.R. Meio ambiente e modernização agrícola. **Revista Brasileira de Geografia**, v.43, n.1, p.3-45, 1981.
- ROSA, C.C.B.; MARTINS, M.L.L. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias de hortaliças de hortas comunitárias de Campos de Goytacazes-RJ.** Anais do 21º Congresso Brasileiro de Microbiologia. Paraná, 2001. 404 p.

- ROSA, C.C.B.; MARTINS, M.L.L.; FOLLY, M.M. Avaliação microbiológica de hortaliças provenientes de hortas comunitárias de Campos dos Goytacazes, RJ. **Higiene Alimentar**, v.19, n.134, p.75-80, 2005.
- RUDE, R.A.; JACKSON, G.J.; BIER, J.W.; SAWIER, T.K.; RISTY, N.G. Survey of fresh vegetable for nematodes, amoebae and Salmonella. . **J. Assoc. off. Anal. Chem**, v.67, p.613-615, 1984.
- SABA, A.; ROSATI, S.; VASSALLO, M. Biotechnology in agriculture: perceived risks, benefits and attitudes in Italy. **British Food Journal**, v.102, n.2, p.114-121, 2000.
- SANTANA, L.M.R.; CARVALHO, R.D.S.; LEITE, C.C.; ALCANTARA, L.M.; OLIVEIRA, T.W.S.; RODRIGUES, B.M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26, n.2, p.264-269, 2006.
- SARAIVA, J. **Feiras vão render R\$ 100 milhões** Disponível em: [http://www.organicabrasil.org/clipping/ec410beb98943189e208877b713e9cfa30\\_Valor\\_Economico.pdf](http://www.organicabrasil.org/clipping/ec410beb98943189e208877b713e9cfa30_Valor_Economico.pdf). Acesso em 10 de abril de 2008.
- SCHMIDT, M.; GREY, M.; BRENDDEL, M. A microbiological assay for the quantitative determination of glutathione. **Biotechniques**, v.21, n.5, p.881, 884-6, 1996.
- SEVERINO, L.S. **Desenvolvimento da agricultura orgânica no Nordeste**. Disponível em: <[http://www.bnb.gov.br/content/Aplicacao/ETENE/Rede\\_Irigacao/Docs/Desenvolvimento%20da%20Agricultura%20Organica%20no%20Nordeste.PDF](http://www.bnb.gov.br/content/Aplicacao/ETENE/Rede_Irigacao/Docs/Desenvolvimento%20da%20Agricultura%20Organica%20no%20Nordeste.PDF)>. Acesso em 10 de maio de 2005.
- SGARBIERI, V.C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento. Campinas**. Campinas: UNICAMP. 387 p. 1987.
- SILVA, C.G.M.; ANDRADE, S.A.C.; STAMFORD, T.L.M. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.10, n.sup., p.63-69, 2005.
- SILVA FILHO, O.M.; PALLET, D.; BRABET, C. **Panorama das qualificações e certificações de produtos agropecuários no Brasil**. Disponível em:<<http://www.fao.org/Regional/LAmerica/prior/desrural/agroindustria/pdf/panorama.pdf>>. Acesso em 18 de maio de 2005.
- SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. **Tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Hortaliças. 168 p. 2000.
- SILVA, J.P.; MARZOCHI, M.C.; CAMILLO-LOURA, L.; MESSIAS, A.A.; MARQUES, S. Estudos da contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nos supermercados da cidade do Rio de Janeiro. **Rev. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.28, n.3, p.273-275, 1995.
- SILVA JR., E.A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela. 6 ed. 623 p. 2007.
- SIMÕES, M.; PISANI, B.; MARQUES, E.G.L.; PRANDI, M.A.G.; MARTINI, M.H.; CHIARINI, P.F.T.; ANTUNES, J.L.F.; NOGUEIRA, A.P. Hygienic-sanitary conditions of vegetable



- and irrigation water from kitchen gardens in the municipality of Campinas, SP. **Braslian Journal of Microbiology**, v.32, p.331-333, 2001.
- SIQUEIRA, R.S. **Manual de Microbiologia dos Alimentos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA. 160 p. 1995.
- SMITH, B. Organic foods vs. supermarked foods: element levels. **Journal of Applied Nutrition**., v.45, p.35-39, 1993.
- SOARES, B. **Ocorrência de estruturas parasitárias em hortaliças**. Dissertação (Mestrado em Farmácia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 78 p., 2004.
- SOARES, B.; CANTOS, G.A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.3, p.455-460, 2006.
- SOUZA, M.L.; BEZERRA, D.C.F.; FURTADO, C.M. Avaliação higiênico-sanitária de alfaces (*Lactuca sativa*) cultivadas pelos processos convencional e hidropônico e comercializadas em Rio Branco, AC. **Higiene Alimentar**, v.20, n.145, p.92-99, 2006.
- SPERS, E.E.; KASSOUF, A.L. A segurança dos alimentos: uma preocupação crescente. **Higiene Alimentar**, v.10, n.44, p.18-21, 1996.
- STAUB, G.A. **O financiamento do banco do Brasil à agricultura orgânica e preservação ambiental do Estado do Paraná**. Dissertação (Mestrado em Gestão da Qualidade e Produtividade). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 139 p., 2003
- STEPHENSON, J. Public health experts take aim at a moving target: foodborne infections. **Jama**, v.277, n.2, p.97-8, 1997.
- STERTZ, S.C. **Qualidade de hortícolas convencionais, orgânicas e hidropônicas na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos).Departamento de Tecnologia de Alimentos., Universidade Federal do Paraná., Curitiba. 260p., 2004
- STRINGHETA, P.C. As leis de produção orgânica no Brasil face às legislações americana, argentina e européia. In: STRINGHETA, P. C. e MUNIZ, J. N. **Alimentos orgânicos: produção, tecnologia e certificação**. Viçosa: Editora UFV, p.331-379, 2003
- TACO. **Tabela de Composição de alimentos**. Campinas: NEPA-Unicamp. 105 p. 2006.
- TAKAYANAGUI, O.M.; OLIVEIRA, C.D.; BERGANINI, A.M.M.; CAPUANO, D.M.; OKINO, M.H.T.; FEBRONIO, L.H.P.; SILVA, A.M.C.; OLIVEIRA, M.A.; RIBEIRO, E.G.A.; TAKAYANAGUI, A.M. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.1, p.37-41, 2001.
- TAKAYANAGUI, O.M.; OLIVEIRA, C.D.; BERGANINI, A.M.M.; CAPUANO, D.M.; OKINO, M.H.T.; FEBRONIO, L.H.P.; SILVA, A.M.C.; OLIVEIRA, M.A.; RIBEIRO, E.G.A.; TAKAYANAGUI, A.M. Análise da cadeia de produção de verduras em Ribeirão preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**., v.39, n.2, p.224-226, 2006.



- TAVARES, J.A.; SARAIVA, F.Z. **Qualidade microbiológica e composição química da alface crespa de diferentes sistemas de cultivo.** Disponível em: <[http://www.fag.edu.br/tcc/2006/Nutricao/\(QUALIDADE%20MICROBIOLOGICA%20E%20COMPOSI\\_307AO%20QUIMICA%20DA%20ALFACE%20.pdf](http://www.fag.edu.br/tcc/2006/Nutricao/(QUALIDADE%20MICROBIOLOGICA%20E%20COMPOSI_307AO%20QUIMICA%20DA%20ALFACE%20.pdf)>. Acesso em 15 de fevereiro de 2009.
- TRANI, P.E.; TIVELLI, S.W.; PURQUERIO, L.F.V.; AZEVEDO FILHO, J.A. **Boletim 200: Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas.** Campinas: Instituto Agrônomo. 1998.
- USP. **Tabela brasileira de composição dos alimentos.** . Disponível em: <http://www.fct.usp.br/>. Acesso em 12 de mar de 2007.
- VICTORINO, C.G. **Substituição de adubação química por adubação orgânica.** Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br/upload/sbrt3936.pdf>>. Acesso em 10 de março de 2007.
- WARMAN, P.R.; HAVARD, K.A. Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown carrots and cabbage. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.61, p.155-162, 1997.
- WILLER, H.; KLICHER, L. **The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2009.** Bonn: IFOAM. 286 p. 2009.
- WILLER, H.; YUSSEFI, M. **The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2006.** Frick: International Federation of Organic Agriculture Movements-IFOAM. 213 p. 2006.
- \_\_\_\_\_. **The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2006.** Frick,: International Federation of Organic Agriculture Movements IFOAM. 9 ed. 252 p. 2007.
- WILLIAMS, C.M. Nutritional quality of organic food: shades of grey or shades of green? **Proc Nutr Soc**, v.61, n.1, p.19-24, 2002.
- WILSON, S. Agricultura orgânica: entre a ética e o mercado? **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v.2, n.1, p.62-73, 2001.
- WORTHINGTON, V. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetable and grains. **The journal of alternative complementary medicine**, v.7, n.2, p.161-173, 2001.
- YUSSEFI, M.; WILLER, H. **The world of organic agriculture: statistics and future prospects.** Disponível em: <<http://www.ifoam.org>>. Acesso de 05 de dezembro de 2003.
- ZAMBRANO, J.; MOYEJA, J.P., L. Efecto del estado de madurez en la composición y calidad de frutos de tomate. **Agronomia Tropical**, v.46, n.1, p.61-72, 1996.



## **EFEITO DOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO ORGÂNICO E CONVENCIONAL NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE HORTALIÇAS**

---

### Capítulo 2

## 1 INTRODUÇÃO

Há consenso entre profissionais da área da saúde (nutricionistas, médicos, farmacêuticos, etc.), pesquisadores, indústrias de alimentos e consumidores da inter-relação entre dieta e saúde e que a ingestão de alimentos ricos em fibras, pobres em gorduras e alimentação predominantemente à base de frutas e verduras diminuem o risco de doenças crônicas como artrite, câncer, osteoporose e corionariopatias (CÂNDIDO e CAMPOS, 1995; COOK e SAMMAN, 1996; DAGLIA et al., 2000; KAUR e KAPOOR, 2001; BEAL, 2002; CAI et al., 2004; LEE, KOO e MIN, 2004).

Em estudos realizados nas últimas décadas, foi verificado que o consumo regular de alimentos com agentes protetores, como por exemplo, os antioxidantes, reduzem consideravelmente o risco de diversas patologias principalmente as doenças crônicas não transmissíveis (DAGLIA et al., 2000; KAUR e KAPOOR, 2001; DUTHIE et al., 2005; HUANG, OU e PRIOR, 2005; MOREIRA et al., 2005; MANCINI-FILHO, 2006).

Efeitos benéficos têm sido associados a substâncias presentes nos alimentos, tais como os flavonóides, folatos, carotenóides e glucosinolatos (HERTOG, HOLLMAN e KATAN, 1992; VERKERK et al., 1997; CAO et al., 1998; DELAQUIS e MAZZA, 1998; JUSTESEN, KNUTHSEN e LETH, 1998; KURILICH et al., 1999; DEKKER, VERKERK e JONGEN, 2000; BONNESEN, EGGLESTON e HAYES, 2001; KAUR e KAPOOR, 2001; TOIT, VOLSTEEDT e APOSTOLIDES, 2001; VAN DEN BERG et al., 2001; HAVSTEEN, 2002; LEONARD et al., 2002; MULLER et al., 2002; SERAFINI et al., 2002; NINFALI e BACCHIOCCA, 2003; YAMAGUCHI et al., 2003). Baseado nessas observações, o comitê do *World Cancer Research Fund* e o *Institute for Cancer Research* recomendam o consumo diário de 400 a 800 g de frutas e verduras (WCRF, 2002).

Alguns trabalhos visaram a comparação do valor nutricional, qualidade sensorial e segurança alimentar entre alimentos produzidos de forma orgânica e convencional. No entanto, esses estudos não são capazes de conclusões cientificamente válidas, o que se percebe é uma tendência dos alimentos orgânicos possuírem redução no teor de nitrato, aumento no teor de vitamina C e matéria seca, bem como um aumento em compostos com ação antioxidantes, tais como

flavonóides e carotenóides (WORTHINGTON, 2001; BOURN e PRESCOTT, 2002; WILLIAMS, 2002; DAROLT, 2003b; 2003a; MAGKOS , ARVANITI e ZAMPELAS, 2003; STERTZ , ROSA e FREITAS, 2005; MAGKOS , ARVANITI e ZAMPELAS, 2006).

Diante do exposto, buscou-se nesse trabalho o desenvolvimento de duas hortas experimentais, nas quais pudessem ser cultivadas hortaliças provenientes do mesmo lote de sementes, germinadas no mesmo tempo e cultivadas paralelamente em canteiros cujo tratamento dar-se-ia de forma orgânica e convencional. Desta forma, alguns condicionantes que poderiam afetar a qualidade nutricional destas hortaliças puderam ser minimizados, uma vez que as condições climáticas, variedade, irrigação, tempo de maturação, condições de armazenamento foram às mesmas para as hortaliças cultivadas orgânica e convencionalmente.

Considerando que a ingestão de hortaliças como parte de uma dieta balanceada poderia ser uma fonte alternativa efetiva de substâncias contra o estresse oxidativo imposto ao organismo humano diariamente, e que métodos de cultivo podem influenciar no teor de substâncias antioxidantes, torna-se relevante avaliar a capacidade antioxidante de alguns exemplares, provenientes de cultivo orgânico e convencional, bem como determinar o teor de compostos fenólicos, os quais estão comumente relacionados com os efeitos benéficos desses alimentos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os radicais livres (RL) são compostos cuja estrutura química possui um ou mais elétrons desemparelhados, sendo muito instáveis e altamente reativos (SOARES, 2002; VETUANI, ANGUSTI e MANDFREDINI, 2004; SU et al., 2007). Para atingir a estabilidade, estas moléculas necessitam adquirir elétrons e, portanto, reagem com a maioria dos compostos, oxidando-os (SANCHEZ-MORENO, 2002).

Fisiologicamente, os radicais livres de maior importância e que podem estar associado à manifestação de diversas enfermidades como cânceres, doenças cardiovasculares, catarata, processos inflamatórios, doenças auto-imunes, entre outras manifestações (COOK e SAMMAN, 1996; DAGLIA et al., 2000; BEAL, 2002; CAI et al., 2004) e envelhecimento precoce (LEE, KOO e MIN, 2004; STADTMAN, 2004) são conhecidos como Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) (Figura 7), incluindo nesta categoria também, as substâncias capazes de reagir quimicamente e gerar novos radicais livres (YAMAMOTO, 2001).

$O_2^{\cdot -}$	Ânion superóxido ou radical superóxido
$HO_2^{\cdot}$	Radical perhidroxil
$H_2O_2$	Peróxido de hidrogênio
$OH^{\cdot}$	Radical hidroxila
$RO^{\cdot}$	Radical alcóxil
$ROO^{\cdot}$	Radical peróxil
$ROOH$	Hidroperóxido orgânico (ex.: lipoperóxido)
$^1O_2$	Oxigênio singlet
$RO^{\cdot}$	Carbonila excitada

Figura 7 - Espécies reativas de oxigênio comumente geradas durante processos metabólicos

Fonte: KUSS, (2007)

O oxigênio é um componente essencial para os seres vivos aeróbicos, sendo que a formação de ERO é inevitável, uma vez que estas espécies reativas são intermediárias da redução parcial do oxigênio, produzidos por reações bioquímicas, em destaque a fosforilação oxidativa, reação que ocorre na mitocôndria e gera energia nos organismos vivos (HALLIWELL, 1999; BENAVENTE et al., 2000; OLIVEIRA, 2003). Para a redução completa de uma molécula de  $O_2$  em duas moléculas de água, quatro elétrons são transportados no interior da membrana mitocondrial interna. Entretanto, 1% a 2% desses elétrons são perdidos durante o transporte, levando à formação do radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e, subsequentemente, de outras numerosas espécies reativas de  $O_2$ , como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e os radicais hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) (ANDERSON, 1996; CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999; PODDA e GRUNDMANN-KOLLMANN, 2001; WICKENS, 2001; YAMAMOTO, 2001; CHOE e MIN, 2005)

O desequilíbrio entre a geração de EROs e os mecanismos de detoxificação destas espécies no organismo, com uma consequente elevação da concentração de radicais livres nas células, acarreta o desenvolvimento de um quadro denominado estresse oxidativo (HALLIWELL, 1996), ou seja há uma ruptura do equilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes em favor desses últimos, levando a danos celulares ou teciduais (CHOW, 2002; CHU et al., 2002; LEE, KOO e MIN, 2004).

O dano oxidativo é a consequência da diminuição do potencial antioxidante e/ou aumento do estresse oxidativo. Apesar de existir normalmente excessiva produção de espécies reativas, elas são inativadas por substâncias denominadas antioxidantes (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999; CHOW, 2002; SOARES, 2002), que são substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de um substrato. Podem agir bloqueando a formação dos radicais livres ou interagindo com esses, inativando-os. Portanto, os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, é capaz de inibir ou retardar substancialmente a oxidação daquele substrato (HALL e CUPPETT, 1997).

## 2.1 ANTIOXIDANTES

O perigo do estresse oxidativo no organismo é tão elevado que existe um sistema de defesa enérgico composto principalmente pelos antioxidantes enzimáticos e por sistemas de reparo presentes nas células e fora delas que estão envolvidos na proteção contra a ação deletéria dos radicais livres (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999). Desta forma, o organismo, pelo sistema imunológico, responde aos agentes agressores pelas reações oxidativas, que estão relacionadas a diferentes processos, como estímulo das células fagocíticas, ativação de mecanismos enzimáticos e produtores de hormônios, sendo todos, de alguma forma, relacionados com a presença das espécies reativas do oxigênio (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

Além disso, a célula também é protegida por vários captadores não enzimáticos, incluindo carotenóides, vitamina C (hidrossolúvel), vitamina E (lipossolúvel), ubiquinol-10 (coenzima Q<sub>10</sub>) e outras substâncias como cisteína, ácido úrico e glutatona. Utiliza-se, também, de substâncias quelantes de íons metálicos para prevenir a Reação de Fenton (SOUSSELIER e BERTHON, 1998; PODDA e GRUNDMANN-KOLLMANN, 2001; WICKENS, 2001; YAMAMOTO, 2001).

### 2.1.1 Antioxidantes Enzimáticos

A evolução permitiu ao organismo desenvolver mecanismos de defesa para limitar a ação das ERO e, nesse contexto, as enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), as catalases e a glutatona peroxidase (GSH-Px) constituem sua primeira linha de defesa (Figura 8) (ANDERSON e PHILLIPS, 1999).

A maioria das enzimas antioxidantes são dependentes de co-fatores externos para que possam desempenhar suas atividades. A SOD corresponde a um grupo de enzimas com diferentes grupos proteicos, cuja principal função é cataisar a dismutação de dois radicais superóxido em um peróxido de hidrogênio e oxigênio (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; HALLIWELL, 1999; TELEN e KAUFMAN, 1999).

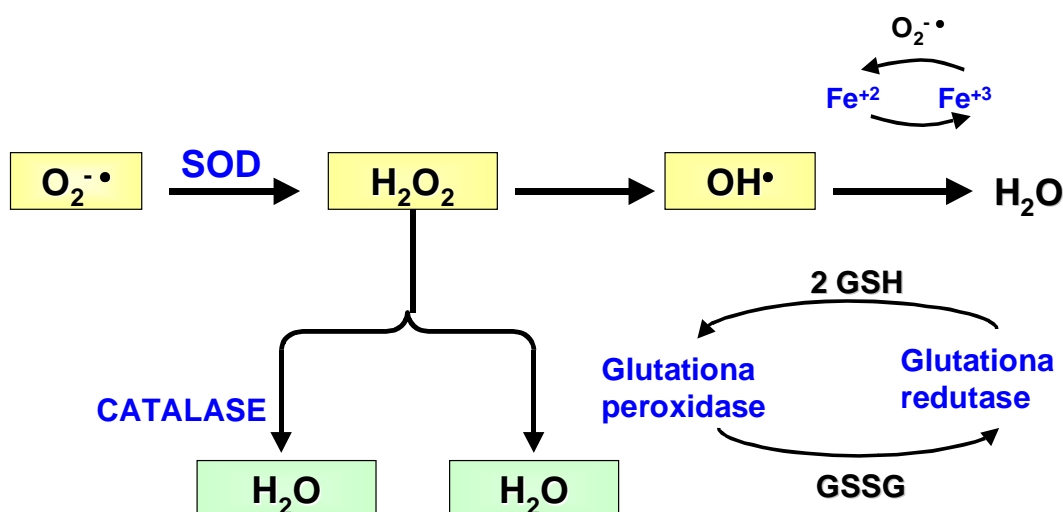


Figura 8- Conversão do oxigênio em água em sistemas enzimáticos biológicos.

Nota:

O<sub>2</sub>: oxigênio; O<sub>2</sub><sup>•-</sup>: anion superóxido; SOD: superóxido dismutase; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peróxido de hidrogênio; NADPH: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido; GSH: glutatina reduzida; GSSG: glutatona oxidada, OH<sup>•</sup>: íon hidroxila.

A catalase é um tetrâmero com quatro grupamentos heme e, encontrando-se predominantemente nos peroxissomos, sendo responsável pela conversão do  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{O}_2$  (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999). O  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode ser eliminado pela ação da glutathione peroxidase (GSH-Px) por intermédio da conversão da glutathione reduzida (GSH) a glutathione oxidada (GSSG). O consumo de GSH nos organismos é alto, no entanto, a enzima glutathione redutase, que funciona dependente de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH), faz com que a forma oxidada da glutathione retorne a forma reduzida (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; FRIDOVICH, 1998; ANDERSON e PHILLIPS, 1999; CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999; FRAGA FILHO, 2003; RENZ, 2003).

A maioria da produção do radical  $\text{OH}^\bullet$ , in vivo, é gerada pela reação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  com  $\text{O}_2^\bullet$ . Esse radical é principalmente produzido através da reação de Haber-Weiss, que envolve a reação de Fenton, que é um exemplo clássico de reação dos radicais livres, catalisadas por metais de transição (DUNFORD, 2002).



### 2.1.2 Antioxidantes sintéticos

As reações oxidativas são consideradas uma das principais responsáveis pela deterioração dos alimentos. Os ácidos graxos insaturados são as estruturas mais suscetíveis ao processo oxidante, pois a presença de carbonos metilênicos entre as duplas ligações, facilita a retirada de um átomo de hidrogênio e a formação do radical livre, passo inicial da oxidação (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

Com intuito de prevenir à deterioração oxidativa, a indústria de alimentos utiliza de antioxidantes sintéticos tais como BHA (butil-hidroxianisol), BHT (butil-hidroxi-tolueno) e TBHQ (terci-butil-hidroxiquinona), que possuem baixo custo e alta estabilidade. No entanto, seu uso em alimentos tem sido gradativamente reduzido em razão de suspeitas sobre sua participação na promoção de efeitos deletérios ao organismo, além da rejeição do consumidor por aditivos sintéticos (CHEUNG , CHEUNG e OOI, 2003; TSAKNIS e LALAS, 2005; MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

O BHA pode induzir hipertrofia hepática, redução do crescimento e desenvolvimento de câncer. Já o BHT apresentou efeitos tóxicos para o fígado, pulmão, rins e afetou o ganho de peso em ratos (SHAHIDI, 2000; HUANG e WANG, 2004).

Por estas razões, a pesquisa para identificação de antioxidantes naturais tem sido intensificada nos últimos anos. Diversos trabalhos têm descrito a ação antioxidante de extratos obtidos de especiarias, leguminosas, cereais, frutas e verduras, tanto em estudos epidemiológicos quanto em experimentais (CAO et al., 1998; AYDEMIR et al., 2000; BENAVENTE et al., 2000; BURNS et al., 2000; BONNESEN , EGGLESTON e HAYES, 2001; BOREK, 2001; BOAS et al., 2003; LLORACH et al., 2003; NINFALI e BACCHIOCCA, 2003; CAI et al., 2004; GIADA e MANCINI-FILHO, 2004; VULCAIN et al., 2005).

### 2.1.3 Antioxidantes Não-Enzimáticos

Os antioxidantes não enzimáticos podem ser de origem endógena ou exógena, atuando de maneira direta ou indireta na neutralização de radicais livres, quelatação de metais ou bloqueio de EROs (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999).

Os antioxidantes hidrofílicos encontrados no sangue circulante ou nos fluidos intersticiais agem neutralizando diretamente os radicais livres ou através da sua participação em sistemas enzimáticos. Os principais são a glutatona, o ácido úrico, a albumina, a haptoglobina e a hemopexina (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999).

A dieta é uma importante fonte de antioxidantes, e sabe-se que vegetais e frutas são ricas em vitaminas, compostos fenólicos e diversas substâncias que auxiliam a manter a saúde celular, inibindo ou retardando a instalação de doenças associadas ao estresse oxidativo (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999).

## 2.2 VEGETAIS COMO PROTETORES E PROMOTORES DA SAÚDE

Dietas ricas em frutas e vegetais têm sido associadas à redução de doenças cardiovasculares (RICE-EVANS, MILLER e PAGANGA, 1996), certas formas de câncer (BONNESEN, EGGLESTON e HAYES, 2001) e outras doenças (DASHWOOD et al., 1994; SORENSEN et al., 2001), mas pouco se sabe sobre o mecanismo de ação dessas substâncias ou a sua relação com a quimioprevenção do câncer (SOSENSEN et al., 2001). Neste contexto, estudos epidemiológicos em humanos e em animais demonstraram correlação entre o consumo de vegetais e a proteção contra cânceres de estômago, esôfago, pulmões, cavidade oral, faringe, endométrio, pâncreas e cólon (STEINMETZ e POTTER, 1996).

Os antioxidantes denominados nutricionais ou intrínsecos estão presentes nos alimentos e participam de alguma maneira do bloqueio do processo oxidativo, como o ácido ascórbico (vitamina C), o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) e o  $\beta$ -caroteno (vitamina A), os carotenóides e os compostos fenólicos, como os flavonóides (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

O ácido ascórbico ou vitamina C é um antioxidante hidrossolúvel e pode atuar como doador de hidrogênios, sequestrador do oxigênio singlet e quelante de metais, em função da sua estrutura molecular (MAY, 1998; HAVSTEEN, 2002; HSU e GUO, 2002; YAMAGUCHI et al., 2003). O ácido ascórbico é um excelente doador de elétrons, gerando inicialmente um radical estável, ácido semi-dehidroascorbico, com rápida conversão a ácido dehidroascórbico, sendo que esta reação é reversível (Figura 9) (GREGORY III, 1996). Contudo, discute-se que o radical ascorbil formado, na presença de íons metálicos de transição, como o ferro e o cobre, pode tornar-se

um agente pró-oxidante, causando intensa peroxidação lipídica (CARR e FREI, 1999; YAMAGUCHI et al., 2003). As fontes vegetais da vitamina C são principalmente os frutos cítricos, melões, tomates, pimenta, brócolis, entre outros (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

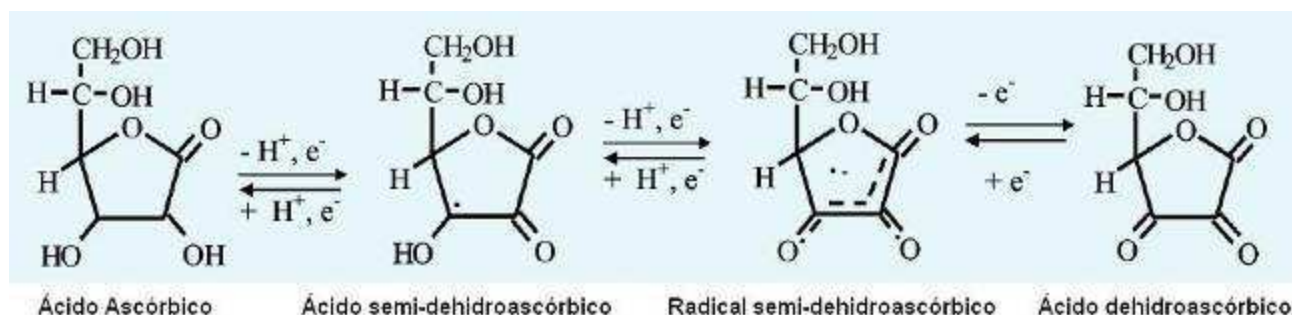


Figura 9 - Sequência de oxidação do ácido ascórbico

Fonte: GREGORY III (1996)

A vitamina E é representada pelos tocoferóis e tocotrienóis e localiza-se tanto na membrana celular como nas lipoproteínas circulantes. A vitamina E bloqueia a peroxidação lipídica por remover radicais peroxil, além de remover radicais  $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet}$  e  $^1O_2$  (HAVSTEEN, 1983; CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999; OLIVEIRA, 2003; LEE, KOO e MIN, 2004). O  $\alpha$ -tocoferol é um sequestrador convertido em vitamina A no organismo, de forma mais efetiva do que os demais (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

Os carotenoides, em geral, devido ao sistema de duplas conjugadas, protegem contra os efeitos deletérios de radicais livres. O  $\beta$ -caroteno constitui a maior fonte de vitamina A e age como antioxidante por inibir a oxidação da fosfatidilcolina, impedindo a peroxidação lipídica (CÂNDIDO e CAMPOS, 1995; RAO e AGARWAL, 1999; LEE, KOO e MIN, 2004). As principais fontes de carotenoides são: cenoura, tomate, feijão, alface, couve-flor, brócolis, escarola, etc. (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

O potencial antioxidante de carotenóides deve-se a capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio em sistemas biológicos. Um mol de  $\beta$ -caroteno pode reduzir 1000 moléculas de oxigênio singlet, sendo esta efetividade dependente do número de duplas ligações conjugadas e do tipo e quantidade de grupos funcionais

presentes na estrutura da molécula (BUETTNER, 1993). Para atuar como um efetivo sequestrador de oxigênio singlet, o carotenóide deve possuir 7 duplas ligações conjugadas, sendo que a efetividade aumenta de acordo com o aumento do número destas duplas ligações (BOFF e MIN, 2002). Contudo, o  $\beta$ -caroteno em altas concentrações pode ser um agente pró-oxidante (EDGE et al., 2000)

Vários compostos isolados de plantas, de natureza química diversificada promovem ação antioxidante reconhecida, em potencial aqueles que possuem, na sua estrutura, um grupamento fenólico, representados por taninos (GIL et al., 2000; DEMIREZER et al., 2001; LIN, HSU e LIN, 2001), cumarinas (FABRE et al., 2000; KONTOGIORGIS e HADJIPAVLOU-LITINA, 2003), antraquinonas (DEMIREZER et al., 2001; KIM et al., 2003; SPILKOVA e DUSEK, 1996).

Atualmente, os compostos fenólicos têm sido muito estudados, pois os alimentos que os contêm, são caracterizados como funcionais, isto é, apresentam alguma propriedade adicional que pode propiciar benefícios à saúde humana, além da importância nutricional. Entre os compostos fenólicos estão as isoflavonas e os ácidos fenólicos na soja, os polifenóis e as catequinas no chá, os ácidos clorogênicos no café, as antocianinas no vinho; os ácidos carnósico e rosmarínico no alecrim; os bioflavonóides nos frutos cítricos, a quercitina e o campferol no alho; os ácidos salicílico, transcinâmico, sináptico, quínico, caféico em diversos vegetais. Portanto, a distribuição de compostos fenólicos na natureza é muito ampla e está intimamente relacionada com esquema de proteção dos vegetais frente aos processos oxidativos (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

Na última década, especial atenção tem sido dada ao potencial antioxidante de uma classe dos compostos fenólicos conhecido como flavonóides. As principais ações benéficas dos flavonóides têm sido atribuídas as suas propriedades antiinflamatórias (HERTOG et al., 1993), antivirais e antibacteriana (HANASAKI, OGAWA e FUKUI, 1994), reduzindo o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (BURNS et al., 2000), câncer (HAVSTEEN, 1983) e envelhecimento precoce (YAMAMOTO, 2001; LEE, KOO e MIN, 2004).

O termo flavonóide engloba um grupo de compostos fenólicos com estrutura comum caracterizada por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel heterocíclico oxigenado, representado pela rutina (Figura 10) (WILHELM FILHO, SILVA e BOVERIS, 1999), que, na natureza, possui distribuição ubíqua, sendo encontrado

em praticamente todas as frutas e vegetais, estando presente abundantemente na dieta do homem (BRAVO, 1998; VAN ACKER et al., 2000; SOARES, 2002).

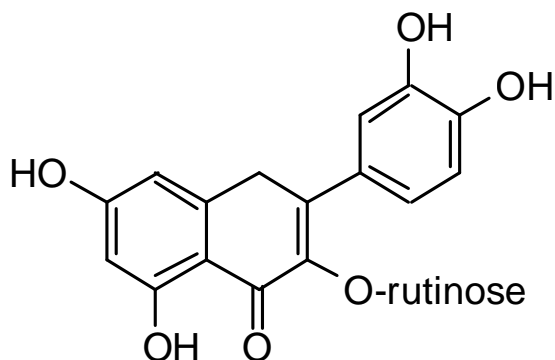


Figura 10 - Estrutura química do flavonoide rutina

Estudos *in vitro* têm sugerido que o potencial antioxidante dos flavonóides possa estar associado às hidroxilas fenólicas presentes na sua estrutura, possibilitando a doação de elétrons dos grupos OH para os radicais livres (CHEN, 1996; HEIJNEN et al., 2002; SOARES, 2002), estabilizando-os, além da quelação de íons metálicos, particularmente os divalentes, como o  $\text{Cu}^{+2}$  e o  $\text{Zn}^{+2}$  (HAVSTEEN, 1983; RICE-EVANS, MILLER e PAGANGA, 1996; MAGNANI, GAYDOU e HUBAUD, 2000; LEAKE, 2001). Neste contexto, é possível que a importante atividade antioxidante atribuída aos flavonóides seja a neutralização de radicais livres, inibindo a peroxidação lipídica (ANDERSON, 1996; BENAVENTE et al., 2000).

A estrutura dos antioxidantes fenólicos influencia diretamente sua atividade, pois a presença de radicais nas posições orto e para do grupamento fenólico aumenta as possibilidades de ressonância da sua forma de radical, conferindo certa estabilidade ao composto formado (MANCINI FILHO e MANCINI, 2008).

Devido a sua diversificada composição é provável que a ação antioxidante de extratos vegetais seja resultante da ação sinérgica dessas várias substâncias, pertencentes a diferentes grupos químicos, agindo simultaneamente no organismo (VANG, MORTENSEN e ANDERSEN, 2001; SANO et al., 2003). Entretanto, para se avaliar efetivamente a ação antioxidante dos vegetais, deve-se buscar, além do enfoque analítico de nutrientes, um enfoque sistêmico, pois inúmeros fatores

interferem na qualidade dos vegetais, como a composição do solo, o clima ou o tipo de cultivo (AZEVEDO, 2003).

Neste trabalho avaliou-se a capacidade antioxidante de três hortaliças (alface, rúcula e almeirão) frequentemente consumidas na dieta do brasileiro e segundo dados de trabalhos científicos apresentam em sua composição compostos fenólicos e vitamina C, substâncias com comprovada atividade antioxidante (MIEAN e MOHAMED, 2001a; TOIT, VOLSTEEDT e APOSTOLIDES, 2001; CHU et al., 2002; YAMAGUCHI et al., 2003; LOMBARDI-BOCCIA et al., 2004; NICOLLE, C. et al., 2004).

A alface (*Lactuca sativa* L) é uma hortaliça folhosa, pertencente à família *Cichoriaceae* de grande aceitação na alimentação humana por ser boa fonte de vitaminas (A1, B1, B2 e C) e sais minerais (cálcio e ferro), tendo a vantagem de ser um alimento de baixo valor calórico, variando de 11 a 15 kcal/100 g em função do cultivar e do sistema de cultivo (BEZERRA NETO et al., 2005; FAVARO-TRINDADE et al., 2007).

É a hortaliça folhosa de maior valor comercial no Brasil, adaptada a clima ameno, sendo própria para cultivos de outono e inverno (MOREIRA, FONTES e CAMARGOS, 2001). Sua multiplicação se dá por meio de sementes, e o consumo no Brasil é superior a 50 t/ano (MENEZES, SANTOS e SCHMIDT, 2001).

O consumo de alface tem aumentado não só pelo crescente aumento da população, mas também pela tendência de mudança no hábito alimentar do consumidor, tornando-se inevitável o aumento da produção. Além disso, o consumidor tem se tornado mais exigente, havendo necessidade de produzi-la em quantidade e com qualidade, bem como manter o seu fornecimento o ano todo. Contudo, o brasileiro consome em média 1,2 kg de alface por ano, o que é pouco de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) (OHSE et al., 2001).

A rúcula (*Eruca sativa* Hill.) é uma hortaliça herbácea anual, de porte baixo, possuindo normalmente altura de 15 a 20 cm, com folhas verdes e recortadas, tendo como centro de origem e de domesticação do gênero *Eruca*, o Mediterrâneo e o oeste da Ásia (REGHIN et al., 2005).

A planta de rúcula é de clima ameno, mas, quando cultivada em climas mais quentes desenvolve-se menos e apresenta folhas grosseiras. As folhas distribuem-se em torno do eixo principal formando roseta. A cultivar mais conhecida é a Cultivada. Tem sua época de plantio entre os meses de março e agosto (ZÁRATE et

al., 2006). O cultivo comercial de rúcula tem aumentado nos últimos anos em muitos países da Europa, sendo consumida principalmente como salada. Além do seu uso na alimentação, também é considerada planta medicinal com muitas propriedades, tais como: digestiva, diurética, estimulante, laxativa e antiinflamatória, além de ser fonte de vitamina C e ferro (REGHIN et al., 2005; ZÁRATE et al., 2006).

No Brasil, trata-se de uma folhosa com crescente incremento de consumo nos últimos anos, com quantidade mensal de 16.029 dúzias de maços de 6 kg comercializados no CEAGESP, entre 1995 a 1999 (CAMARGO FILHO e MAZZEI, 2001).

O almeirão (*Cichorium intybus* L.) é uma *Asteraceae* muito semelhante à chicória de quem se diferencia por possuir folhas mais alongadas, mais estreitas, recobertas por pelos e com sabor amargo mais pronunciado (MONDIN, 1996; NOVO, TRANI e MINAMI, 2003). Embora do ponto de vista nutricional o almeirão seja superior à alface (KHATHOUNIAN, 2001) por ser mais calórico e mais rico em proteínas, amido, fibras, cálcio, ferro e vitamina A, é uma das hortaliças menos estudadas no Brasil (NOVO, TRANI e MINAMI, 2003).

### 2.3 MÉTODOS EXPERIMENTAIS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante de uma substância não pode ser mensurada diretamente, mas através dos seus efeitos sobre um substrato ou sistema passível de ser monitorado. A maioria desses métodos usa processos oxidativos, que envolvem a adição de um agente iniciador, como a temperatura, agitação ou uma pressão parcial de O<sub>2</sub>, um metal de transição ou mesmo exposição à luz, para acelerar o processo, e uma fonte de radicais livres específica. Esses radicais são, então, oxidados sob condições padronizadas e o grau de oxidação, ou sua extensão, medido (ANTOLOVICH et al., 2002).

Muitos métodos e modos de expressar a atividade antioxidante de extratos obtidos de plantas têm sido utilizados, onde o efeito de várias concentrações é comparado ao efeito exercido por uma substância de referência, como as vitaminas C ou a E, ou mesmo um composto puro, como a quercitina e a rutina. Contudo,

como recentemente destacado por Antolovich et al. (2002), distinção entre atividade antioxidante e capacidade antioxidante deve estar presente quando se interpreta os resultados, uma vez que esta refere-se à somatória de todas as atividades antioxidantes exercidas individualmente por cada componente presente em uma mistura, como é o caso de extratos.

Várias metodologias têm sido descritas para uma avaliação rápida da capacidade e eficácia antioxidante de compostos químicos e extratos vegetais. Muitos testes recorrem a formação de radicais livres instáveis, pela decomposição térmica de iniciadores, tais como o ABAP (MIGUEL et al., 2004; MORAIS et al., 2006), ABTS<sup>+</sup> (RE et al., 1999; ARTS et al., 2004; SOARES, ANDREAZZA e SALVADOR, 2005), AAPH (MITJANS et al., 2004; YU et al., 2007), os quais reagem rapidamente com o oxigênio originando radicais peróxilas.

Alguns autores propõem outros tipos de teste que não recorrem à oxidação de substratos, mas à redução de radicais livres estáveis gerados in vitro, como resultado da atividade antioxidante dos extratos ou substâncias avaliadas. Entre esses, destaca-se o método original de Blois (BLOIS, 1958), adaptado por vários autores, no qual o radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), que é um radical livre estável (DPPH<sup>•</sup>), que na presença de um antioxidante doador de hidrogênio (AH), pode ser reduzido em meio alcoólico, formando difenil picrilhidrazina (Figura 11) (KOLEVA et al., 2002).

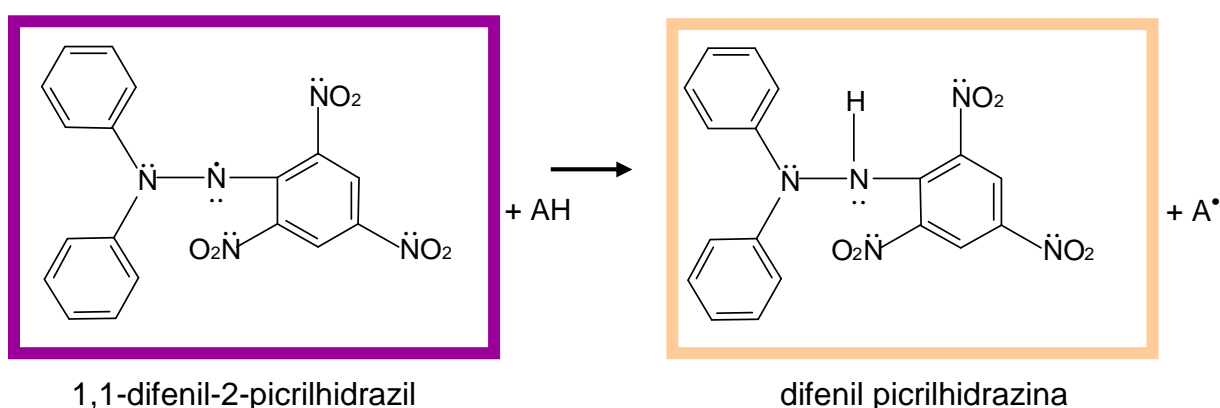


Figura 11 - Mecanismo de redução do radical livre DPPH



O ensaio de redução do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) tem sido amplamente utilizado como um método químico para a investigação do potencial antioxidante de produtos naturais, particularmente para extratos de plantas medicinais (BRACA et al., 2001; LU e FOOD, 2001; MENSOR , MENEZES , LEITAO , REIS , SANTOS et al., 2001; BRACA et al., 2002) e vegetais comestíveis (GUO et al., 2001; SANDOVAL et al., 2002; LLORACH et al., 2003).

A redução pode ser acompanhada espectrometricamente em 518 nm, pela diminuição da absorbância, com simultânea mudança da coloração violeta escura original da solução para amarela, descorando à medida que a reação com a solução teste se processa. Quanto maior a atividade antioxidante, menor será a coloração violeta da solução, ou seja, o DPPH<sup>•</sup> residual, mensurado após certo tempo, corresponde inversamente à capacidade antioxidante da substância analisada.

A molécula do DPPH<sup>•</sup> apresenta um máximo de absorção a 517-520 nm e após ser reduzida por uma substância doadora de elétrons, observa-se uma diminuição da absorbância. As variações nas condições iniciais do ensaio, como mostrado por diferentes autores, que empregam diferentes concentrações iniciais de DPPH<sup>•</sup>, combinados com diferentes tempos de reação, não resultam em mudanças significativas na interpretação dos resultados. Porém a interação de um antioxidante em potencial com o DPPH<sup>•</sup> depende de sua conformação estrutural. Em termos analíticos, o método do é recomendado para avaliar a atividade antioxidante de extratos vegetais e produtos, por fornecer resultados reprodutíveis e confiáveis de forma rápida e fácil (KOJIMA , MIZUNO e MIYAZAKI, 1958; BONDET , BRAND-WILLIAMS e BERSET, 1997; HIRANO et al., 2001; MENSOR , MENEZES , LEITAO, REIS , DOS SANTOS et al., 2001; KOLEVA et al., 2002; MOLYNEUX, 2004).

A molécula do DPPH<sup>•</sup> é caracterizada como um radical livre estável em virtude da delocalização do elétron excedente, impedindo a dimerização, como ocorre com a maioria dos radicais livres. A delocalização também resulta em um aumento de intensidade da coloração violeta, caracterizado pela absorção em solução etanólica em torno de 520 nm. Quando a solução de DPPH é misturada com substâncias que podem doar átomos de hidrogênio, o DPPH reduz-se e diminui portanto, a intensidade da coloração violeta (MOLYNEUX, 2004).

Os mecanismos de reação propostos para o método do DPPH<sup>•</sup>, descritos por Brand-Williams et al. (1995, 1997) para substâncias fenólicas, parecem envolver, de forma isolada ou combinada, a (RAO e AGARWAL) dimerização entre dois radicais fenoxil, seguida da regeneração de dois grupos hidroxila pela transferência do hidrogênio, podendo novamente reagir com DPPH<sup>•</sup> e (AAO) uma molécula de DPPH<sup>•</sup> pode complexar-se com um radical aril, conforme demonstrado na Figura 12.

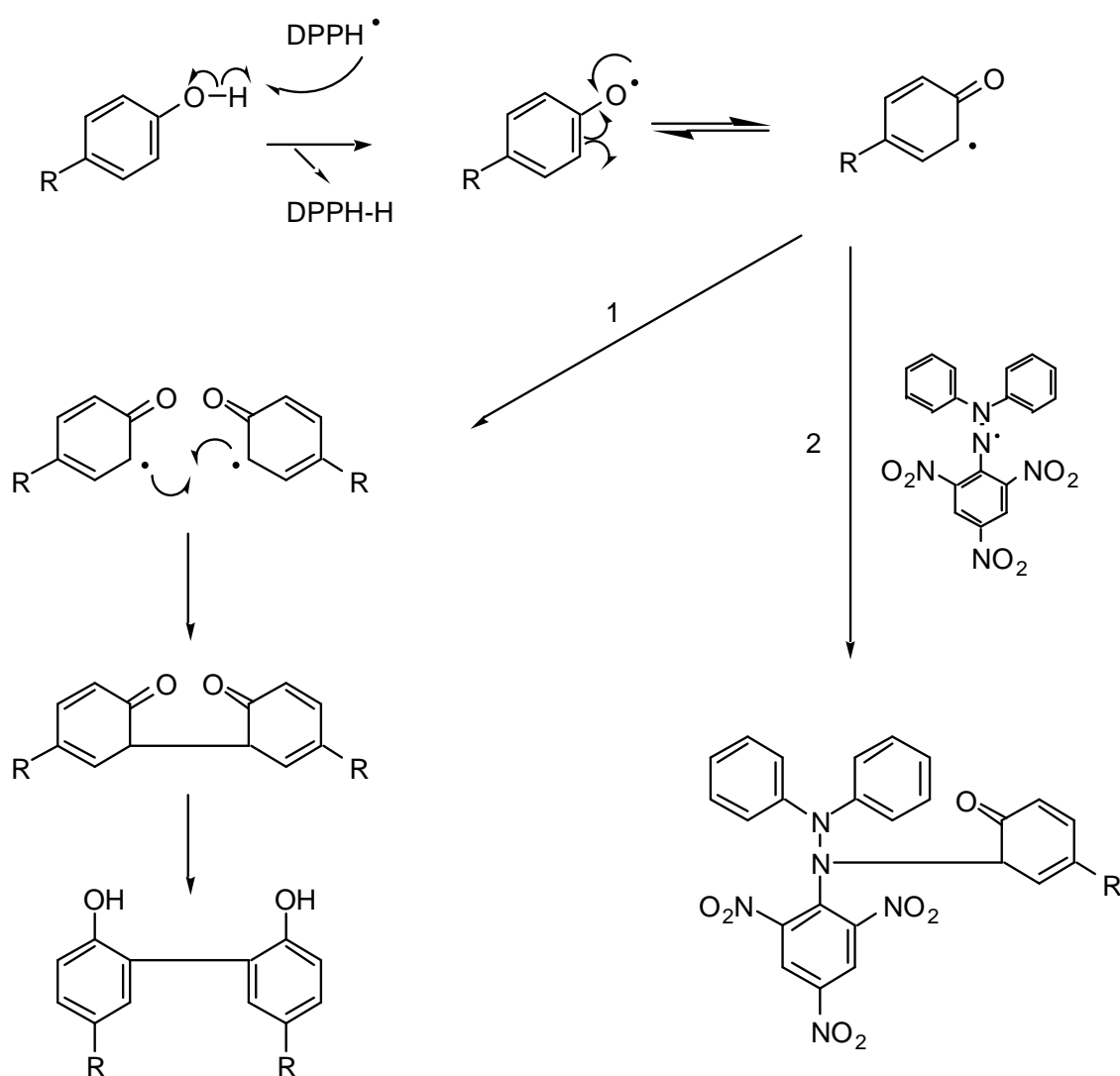


Figura 12- Proposta de mecanismos de reação para substâncias fenólicas com DPPH

Nota: [1] dimerização entre dois radicais fenoxil, seguida da regeneração de dois grupos hidroxila pela transferência do hidrogênio, podendo novamente reagir com DPPH<sup>•</sup> e (AAO) uma molécula de DPPH<sup>•</sup> pode complexar-se com um radical aril, os quais podem ocorrer de forma isolada ou combinada. Fonte: BRAND-WILLIAMS, 1995

O método do DPPH mostra-se como uma alternativa rápida, pois ocorre em aproximadamente 30 min, de custo praticável por utilizar reagentes acessíveis e por não necessitar de equipamentos sofisticados. Além disso, nesse método, a eficiência antioxidante é mensurada em temperatura ambiente, eliminando-se o risco potencial de degradação térmica de algumas das substâncias analisadas (BONDET , BRAND-WILLIAMS e BERSET, 1997; MOLYNEUX, 2004).

Assim, no presente trabalho, a capacidade antioxidante de extratos obtidos alface, rúcula e almeirão, provenientes de uma horta experimental onde estas hortaliças foram cultivadas sob sistema orgânico e convencional foi investigado usando o método químico da redução do DPPH.

## 2.4 OBJETIVOS

### 2.4.1 Objetivo Principal

- Avaliar a capacidade antioxidante de extratos de hortaliças usados na dieta regular, obtidos de cultivos orgânico e convencional utilizando o método de redução do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), tendo a vitamina C como referência.

### 2.4.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar *in vitro* da capacidade antioxidante dos extratos metanólicos de *Lactuca sativa* cultivar Verônica (alface), *Eruca sativa* (rúcula) e *Cichorium intybus* L. (almeirão) provenientes das hortas experimentais orgânica e convencional.
2. Quantificar o teor de fenólicos das hortaliças cultivadas nas hortas experimentais
3. Verificar se existe diferença entre as hortaliças cultivadas de forma orgânica e convencional em relação ao potencial antioxidante e teor de fenólicos.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 DESENVOLVIMENTO DE UMA HORTA EXPERIMENTAL

A fim de possibilitar a comparação válida entre a ação antioxidante de hortaliças produzidas em um sistema orgânico e convencional, desenvolveram-se duas hortas experimentais no Campus Agrárias da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (Uniderp) de forma que as hortaliças pudessem ser colhidas no mesmo grau de maturidade comercial, fossem provenientes de um mesmo lote de sementes, plantadas na mesma época, fossem irrigadas de forma semelhante, sofressem as mesmas variações climáticas, diferindo apenas no tipo de adubação empregada.

Dessa forma sementes peletizadas<sup>1</sup> de alface (*Lactuca sativa*) cultivar Verônica (AF 257), rúcula (*Eruca sativa*) e almeirão (*Cichorium intybus* L.) foram semeadas em bandejas com 128 células (Figura 13), sob cultivo protegido em estrutura fechada com tela, durante o período de 06/08/2007 a 20/08/2007. A semeadura constou de duas ou quatro sementes por célula, sendo nessa fase empregado substrato orgânico produzido no local.

Optou-se em iniciar o cultivo através da produção de mudas em bandejas, pois se verifica um aumento no rendimento, redução da quantidade de sementes, uniformização das mudas e facilitação no manuseio no campo, melhorando o controle fitossanitário e permitindo a colheita mais precoce (FILGUEIRA, 2000).

Após aproximadamente 15 dias as mudas foram transplantadas para o solo: metade das mudas foi plantada na horta experimental orgânica e o restante na horta convencional. O sistema de irrigação utilizado foi do tipo gotejamento, sendo aplicados turnos de rega diários de acordo com as necessidades das espécies cultivadas.

---

<sup>1</sup> Sementes peletizadas são revestidas com sucessivas camadas de material seco e inerte, o que facilita sua distribuição e manuseio, resultando em semeaduras mais precisas e menor quantidade de sementes (FRANZIN et al., 2004).



Figura 13 – Bandejas para semeadura e crescimento de mudas

No sistema orgânico de produção, a adubação foi composta por biofertilizante (o qual foi preparado por meio da fermentação contendo esterco de bovinos fresco e água na proporção de 50% v/v, por um período de 21 dias, em recipientes plásticos, na ausência de ar), e no sistema convencional, além de esterco bovino, foi utilizado o fertilizante NPK (10:10:20), após 15, 30 e 45 dias.

O ciclo das alfaces cultivadas no Brasil, para a produção de sementes, varia em função do clima, cultivar e local (MENEZES , SANTOS e SCHMIDT, 2001). Nesse trabalho as amostras de alface, rúcula e almeirão tanto na horta orgânica quanto na convencional foram cultivadas por 52 dias.

Para a elaboração dos extratos metanólicos na avaliação do potencial antioxidante foram coletadas, ao acaso, cinco plantas por canteiro.

### 3. 2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS METANÓLICOS

Os extratos metanólicos foram utilizados para os ensaios de redução do DPPH, onde as hortaliças *in natura* (50 g), previamente fracionados, foram macerados por seis dias em funil de separação (Figura 14), utilizando-se um sistema solvente composto por metanol-água (7:3), sendo que após esse período houve visualmente a descoloração dos extratos. Os extratos obtidos foram concentrados em rotavapor sob pressão reduzida e temperatura inferior a 50 °C e o volume final aferido para 50 ml com metanol.



Figura 14 – Início da preparação dos extratos metanólicos

A partir dos extratos metanólicos foram feitas diluições para obtenção das soluções testes nas concentrações de 0,01; 01; 1 e 10 mg/ml

### 3.3 ENSAIO DE REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH

O ensaio foi realizado segundo metodologia descrita por Koleva et al. (2002) com modificações propostas por Choi et al. (2002). Esse método consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH<sup>•</sup>) de coloração púrpura que absorve a 518 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R<sup>•</sup>), o DPPH<sup>•</sup> é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH<sup>•</sup> remanescente no meio reacional.

Guo et al. (2001) descrevem que os melhores solventes para a metodologia do DPPH são o metanol ou etanol, a utilização de outros sistema solvente, como água e acetona diminuem consideravelmente a capacidade de redução do DPPH (GUO et al., 2001). Portanto, no presente trabalho optou-se pelo preparo das soluções em metanol p.a.

Uma alíquota de vitamina C (0,2 mg/ml), empregada nesse estudo como controle positivo, e alíquotas de 2,5 ml dos extratos das hortaliças nas concentrações de 0,01 a 10 mg/ml foram tratadas com 1 ml de solução metanólica de DPPH a 0,3 mM. Após agitação, os tubos foram deixados em repouso ao abrigo da luz por 30 minutos. Decorrido o tempo de reação a absorbância das amostras foi obtida em 518 nm contra um branco específico para cada concentração (2,5 ml de extrato e 1,0 ml de metanol). Como controle negativo, utilizou-se uma solução de metanol (2,5 ml) e de DPPH (1,0 ml), para o branco, utilizou-se 2,5 ml de cada concentração dos extratos tratados com 1 ml de metanol. Os ensaios foram realizados em triplicata

A partir dos valores lidos foi calculada a porcentagem de DPPH<sup>•</sup> consumido, obtida segundo a equação 8:

Equação 8

$$\% \text{ de DPPH}^{\bullet} \text{ consumido} = 100 - \{[(\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}) \times 100] / \text{Abs}_{\text{controle}}\}$$

Os resultados foram expressos também pelos valores de  $IC_{50}$ , ou seja, a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, calculados por regressão linear e plotados em gráficos onde a abscissa representa a concentração do extrato testado e a ordenada à proporção da porcentagem da atividade antioxidante. No intervalo linear foi determinada a equação de reta de primeiro grau e com isso, foi possível determinar o valor da  $IC_{50}$  para os extratos testados.

### 3.4 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A quantificação de compostos fenólicos foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu, método que envolve a redução do reagente (ácidos fosfotúngstico e fosmomolibdico) pelos compostos fenólicos das amostras com concomitante formação de um complexo azul (óxido de tungstênio e molibdênio) cuja intensidade aumenta linearmente a 765 nm (SWAUN e HILLIS, 1959; WETTASINGHE e SHAHIDI, 1999).

A partir dos extratos brutos das hortaliças orgânicas e convencionais [1 mg/ml], realizou-se uma diluição em metanol a fim de obter os extratos na concentração de 200 µg/ml. Para a reação calorimétrica, uma alíquota de 0,5 ml da solução metanólica de extrato foi adicionada de 0,5 ml de solução aquosa do reativo Folin-Ciocalteu, 0,5 ml de carbonato de sódio a 10% e 1,5ml de água destilada. A mistura foi incubada por 30 minutos em temperatura ambiente e, posteriormente, a absorbância foi medida em 765 nm, usando-se branco como referência. O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (0,01 a 0,05 mg/ml) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por mg de extrato.

A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos das hortaliças foi realizada em triplicata.



### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os ensaios para avaliação da capacidade antioxidante foram realizados em triplicatas e os resultados foram apresentados como média  $\pm$  1 desvio padrão da média (DP). Para análise estatística dos resultados, utilizou-se o teste *t* de Student, o teste de regressão simples e intervalos de confiança, quando indicado e foram considerados significativos quando  $p \leq 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DAS HORTALIÇAS PELO MÉTODO DE REDUÇÃO DO DPPH

No ensaio de redução do radical livre DPPH<sup>•</sup>, à medida que o radical livre sofre redução pelos componentes presentes na solução teste, observa-se mudança da coloração violeta intensa original da solução para amarela (Figura 15), cuja intensidade é proporcional à concentração da(s) substância(s) com potencial antioxidante presente(s), de conformidade com as leis de Lambert e Beer (BLOIS, 1958), e que pode ser medida espectrofotometricamente a 518 nm. A descoloração gradativa se deve ao pareamento, também gradativo, dos elétrons do DPPH<sup>•</sup> disponíveis (BLOIS, 1958). Ou seja, quanto maior a atividade antioxidante, menor será a coloração violeta da solução e maior a coloração amarela.

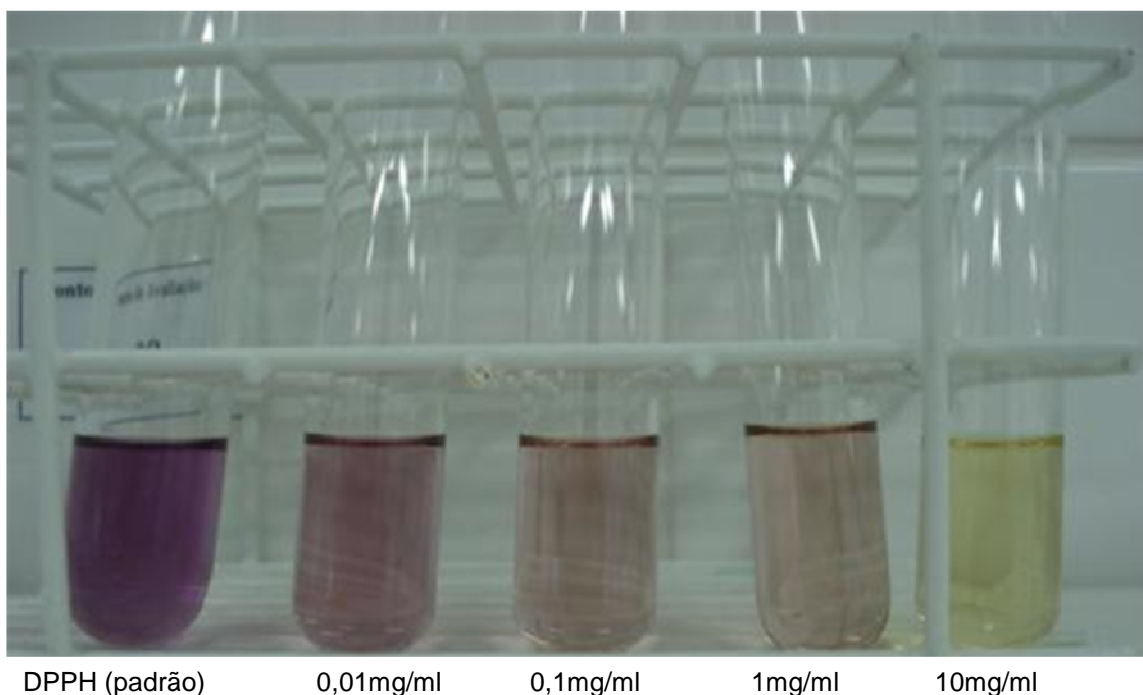


Figura 15 - Atividade antioxidante de extrato de rúcula orgânica avaliada pelo método de redução do DPPH

Nota: Concentrações como indicado do extrato de rúcula orgânica foram tratadas com solução de DPPH por 30 min a temperatura ambiente e a mudança de coloração de violeta para amarela foi proporcional à concentração do extrato.

Entretanto, relatos têm alertado para o fato de que há substâncias antioxidantes que reagem de forma particular com o DPPH<sup>•</sup>, implicando uma cinética diferenciada (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995). Por exemplo, a vitamina C, frequentemente usada como padrão, assim como o ácido isoascórbico e o isogenol, reage com o DPPH<sup>•</sup> em menos de um minuto, em contraste com o guaiacol, BHT ou o BHA, os quais podem levar de 30 minutos até algumas horas para reagir. Numa posição intermediária, com reações entre cinco e trinta minutos, estão compostos como o  $\delta$ -tocoferol ou o ácido rosmarínico. Essas diferenças parecem ser decorrentes não só de um impedimento estérico (MCGOWAN, POWELL e RAW, 1959; HOGG, LOHMANN e RUSSELL, 1961; POKORNY, 1987) como também da presença e do número de hidroxilas existentes nessas moléculas (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995), as quais podem doar H<sup>+</sup> para estabilizar o radical livre.

Arbos (2004) avaliou a cinética de reação do DPPH<sup>•</sup> com diferentes concentrações de extratos vegetais nos tempos de 0, 15, 30 e 60 minutos e verificou que o decaimento do radical livre nos tempos de 30 e 60 min foi muito próximo, inclusive com sobreposição das cinéticas, indicando que um aumento do tempo de reação além de 30 min não resultaria em aumento da redução desse radical.

Nesse trabalho, avaliou-se a capacidade antioxidante de extratos das hortaliças, em concentrações de 0,01 mg/ml a 10 mg/ml e definindo-se como tempo de reação 30 minutos, corroborando com grande parte da literatura (LU e FOOD, 2001; BRACA et al., 2002; KIM et al., 2002), onde esse ensaio é empregado.

Concomitantemente à avaliação da capacidade antioxidante dos extratos vegetais, realizou-se o ensaio de redução do DPPH<sup>•</sup> com o ácido ascórbico, uma substância de comprovada ação antioxidante (BIANCHI e ANTUNES, 1999; POLYAKOV et al., 2001; HSU e GUO, 2002; AMAROWICH et al., 2004; QIAN e NIHORIMBERE, 2004; KOLECKAR et al., 2007), empregadas neste trabalho como controle positivo do ensaio.

## 4.2 EXPRESSÃO DOS RESULTADOS DO ENSAIO DE REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH

Quando o método do DPPH é utilizado, variação acentuada no modo de apresentação dos resultados concernentes à atividade antioxidante investigada é observada, dificultando comparações. Por exemplo, pode-se expressar os resultados como a capacidade de sequestrar/reduzir o radical DPPH<sup>•</sup> em percentagem (LU e FOOD, 2001; CHOI et al., 2002), pelo valor de IC<sub>50</sub>, ou seja, a quantidade de substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH<sup>•</sup> (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995; SANDOVAL et al., 2002) ou, ainda, pelo poder antioxidante ou poder anti-radical, o qual expressa a relação inversa da IC<sub>50</sub> (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995; SANCHEZ-MORENO, 2002; SANDOVAL et al., 2002; MOLYNEUX, 2004).

Nesse trabalho, os resultados da capacidade antioxidante dos extratos das hortaliças estudados estão apresentados sob duas formas: (a) pela IC<sub>50</sub> (concentração inibitória) e (b) por meio da percentagem de redução da quantidade inicial de DPPH (% de DPPH consumido).

Para a determinação da IC<sub>50</sub>, concentrações crescentes (0,01 a 10 mg/ml) dos extratos metanólicos de alface, rúcula e almeirão, obtidos de cultura convencional e orgânica conforme indicado, foram submetidas à reação com o DPPH<sup>•</sup>. Em seguida, para cada concentração testada, construiu-se a cinética de reação graficamente e, desses gráficos, a percentagem de DPPH<sup>•</sup> consumido foi determinada como previamente descrito.

Para construção dos gráficos foram utilizadas apenas as concentrações que resultavam em uma reta com linearidade, sendo portanto excluídos os valores obtidos na concentração 10 mg/ml. Desta forma, no intervalo linear foi determinada a equação da reta de primeiro grau, do tipo  $y = ax + b$ , a qual serviu como base para o cálculo da IC<sub>50</sub>.

As figuras 16 a 21 ilustram os valores de redução do DPPH conforme a diluição, bem como a equação da reta, a qual foi empregada para cálculo do IC<sub>50</sub>.

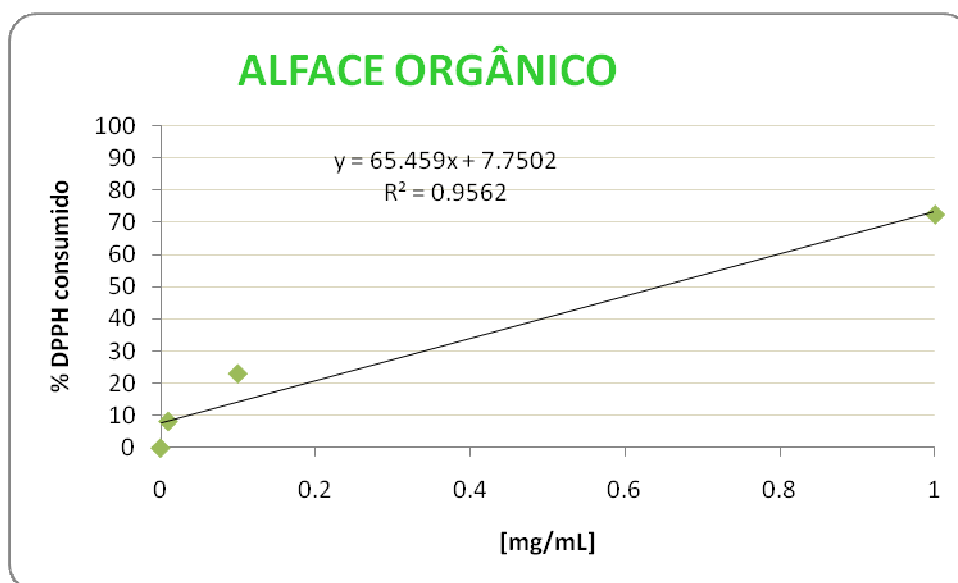


Figura 16- Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de alface orgânico (mg/ml)

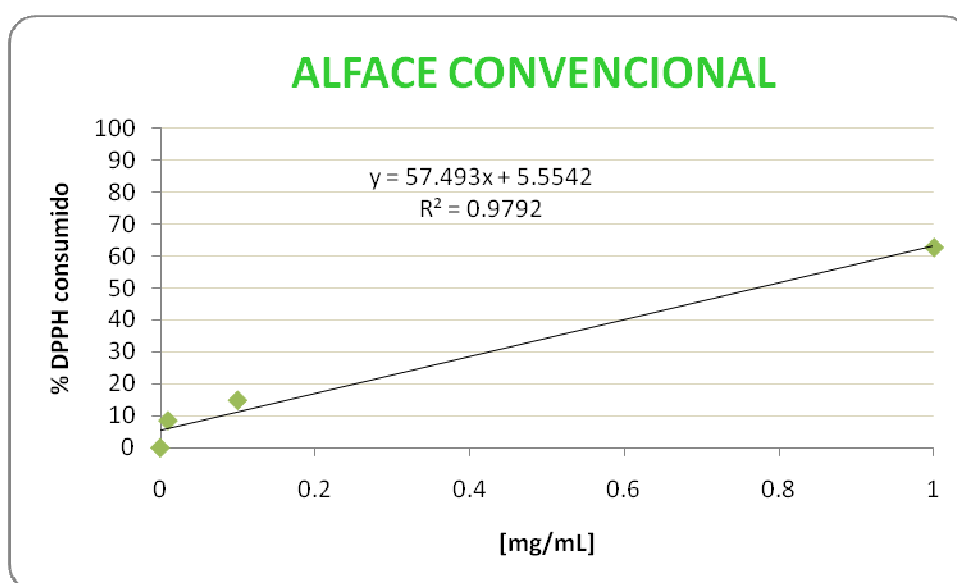


Figura 17 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de alface convencional (mg/ml)

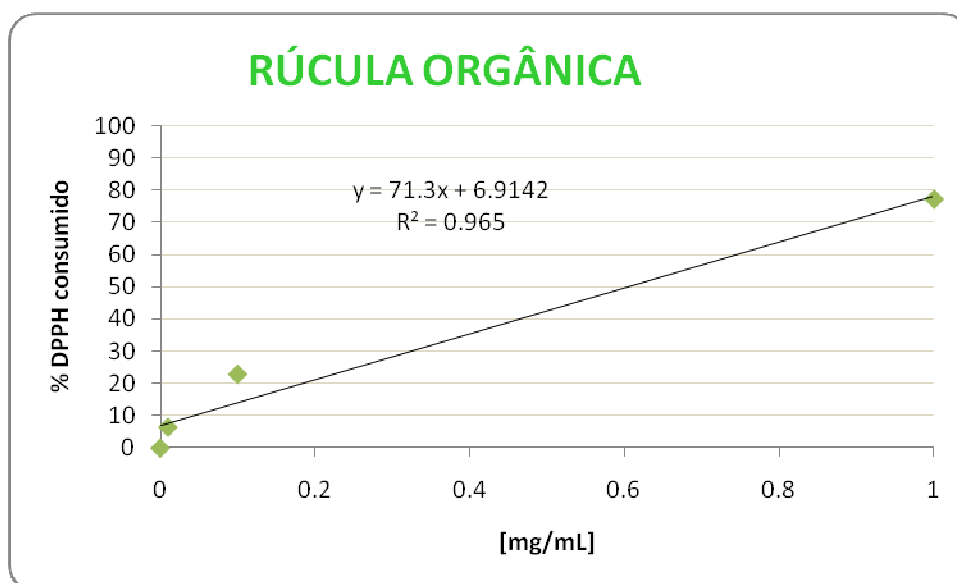


Figura 18 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de rúcula orgânica (mg/ml)

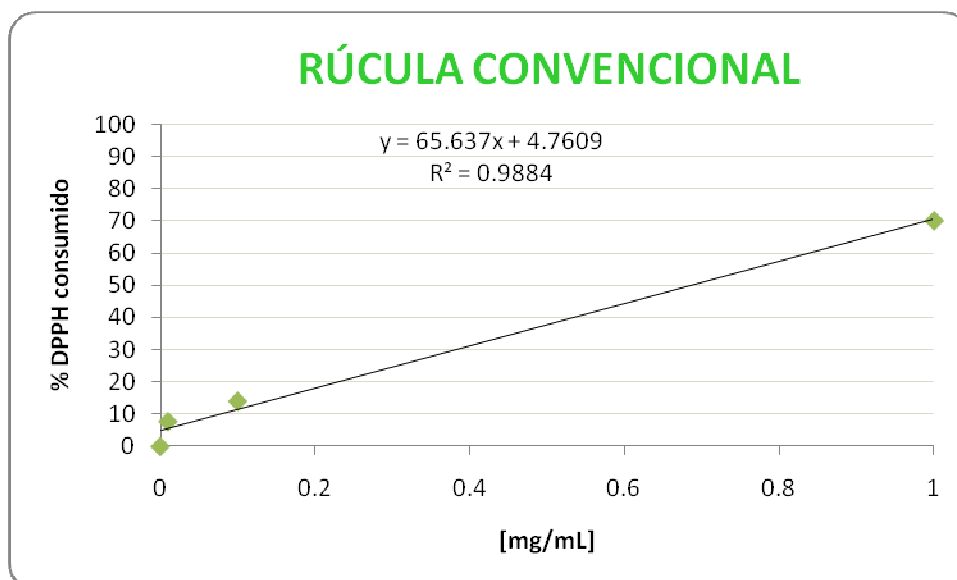


Figura 19 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de rúcula convencional (mg/ml)

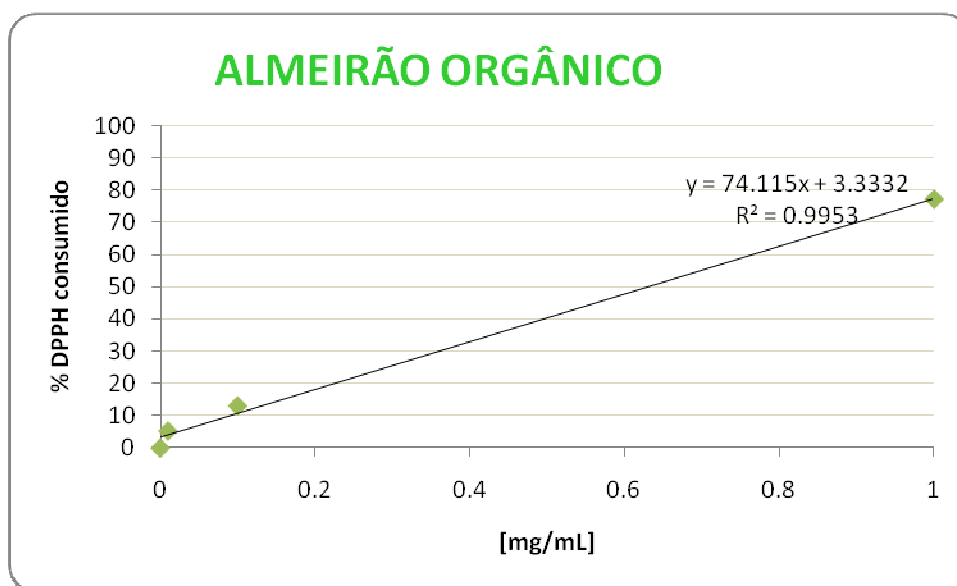


Figura 20 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de almeirão orgânico (mg/ml)

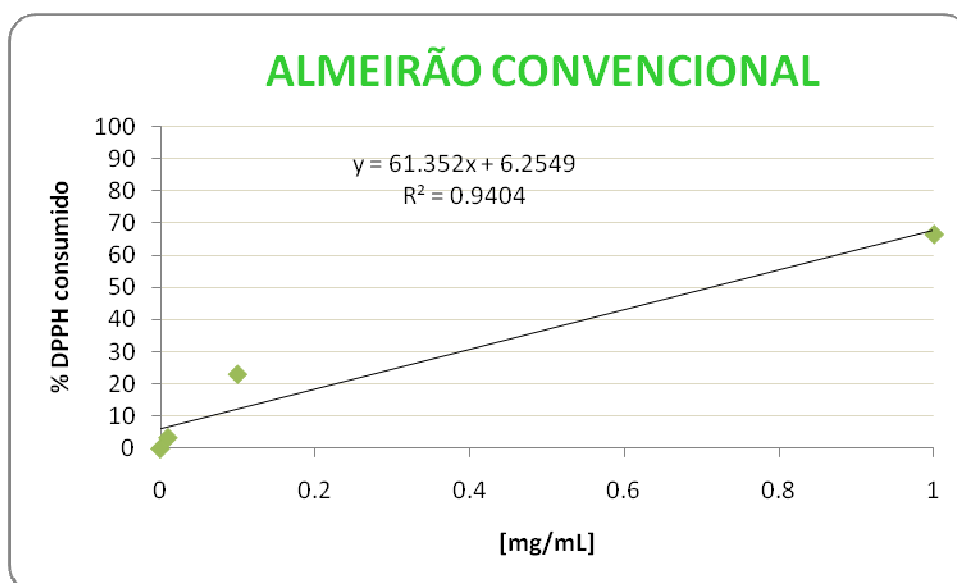


Figura 21 - Gráfico da % de DPPH consumido segundo a diluição do extrato de almeirão convencional (mg/ml)

A concentração de antioxidante necessária para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH é um parâmetro vastamente utilizado para mensurar a eficácia antioxidante. Quanto mais efetivo for o antioxidante menor será o valor do parâmetro  $IC_{50}$  (EL e KARAKAYA, 2004; QIAN e NIHORIMBERE, 2004). Desta forma, todas as hortaliças provenientes de cultivo orgânico, analisadas no presente estudo, apresentaram menor valor de  $IC_{50}$ , indicando serem mais efetivas do que as hortaliças convencionais na redução do DPPH, ou seja, a capacidade antioxidante das hortaliças orgânicas foi superior às convencionais (Tabela 10).

Hortaliça	$IC_{50\%}$	
	Orgânico	Convencional
Rúcula	0,60	0,68
Almeirão	0,62	0,71
Alface	0,64	0,77

Tabela 10 – Concentração Inibitória dos extratos de rúcula, almeirão e alface, segundo método do DPPH

Dentre as hortaliças analisadas, a efetividade na capacidade antioxidante foi, em ordem decrescente, obtida pela rúcula orgânica ( $IC_{50}$  de 0,60 mg/ml), almeirão orgânico ( $IC_{50}$  de 0,62 mg/ml), alface orgânica ( $IC_{50}$  de 0,64 mg/ml), rúcula convencional ( $IC_{50}$  de 0,68 mg/ml), almeirão convencional ( $IC_{50}$  de 0,71 mg/ml) e alface convencional ( $IC_{50}$  de 0,77 mg/ml), hortaliça esta com a menor ação antioxidante.

No entanto, em comparação com a atividade antioxidante exercida pelo padrão de vitamina C ( $IC_{50}$  de 0,03 mg/ml), todos os extratos analisados apresentaram menor ação. Esse fato era previsível, uma vez que a vitamina C empregada é um padrão purificado e que os extratos das hortaliças apresentam inúmeras substâncias que exercem esse efeito antioxidante, tais como compostos fenólicos, carotenóides e a própria ação da vitamina C. Associado a isso, pode-se destacar que o homem comumente ingere hortaliças como parte integrante de sua dieta, e que por mais que a ação antioxidante dos extratos das hortaliças tenham sido inferiores ao padrão de vitamina C, ainda sim, pode-se considerar relevante, uma vez que podem ser fonte de substâncias preventivas ao estresse oxidativo imposto diariamente ao organismo humano.



Semelhantemente aos dados acima relatados, a capacidade de redução do radical livre DPPH pelo ácido ascórbico em diferentes concentrações (0,1-0,5 mg/ml) foi significativamente superior aos extratos obtidos de folha de goiaba (QIAN e NIHORIMBERE, 2004).

Chu et al. (2002) após analisar a ação antioxidante de 10 vegetais através do método TOSC (capacidade antioxidante total) verificaram qual a contribuição do teor de vitamina C desses vegetais na ação antioxidante determinada. Cenoura, espinafre, cebola e alface tiveram menos do que 5% da atividade antioxidante atribuída ao teor de vitamina C. No entanto, Duarte Almeida et al. (2006), relataram que extratos metanólicos de acerola apresentaram maior capacidade de sequestrar radicais livres do que extratos de açaí e de morango, e que esta ação devia-se ao elevado teor de ácido ascórbico presente na acerola (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Extratos de almeirão analisados por El e Karakaya (2004) demonstraram uma ação antioxidante superior ( $IC_{50}$  de 0,35) ao observado pela mesma hortaliça, quer de cultivo orgânico ou convencional, analisadas nesse trabalho. Portanto, esta variação pode ser atribuída a inúmeros fatores, tais como as condições climáticas, composição do solo, variedade, entre outros.

Vegetais e outros produtos naturais como cascas, ervas e sementes possuem uma centena de compostos com potencial ação antioxidante, sendo por esta razão, frequentemente empregada apenas a avaliação da atividade antioxidante total ao invés de se avaliar individualmente a ação de cada composto constituinte dos extratos totais (CAO, SOFIC e PRIOR, 1996; GUO et al., 2001; MENSOR, MENEZES, LEITAO, REIS, SANTOS et al., 2001; KOLEVA et al., 2002; EL e KARAKAYA, 2004). Por essa razão, nesse trabalho avaliou-se a capacidade de diferentes concentrações do extrato total em reduzir o DPPH, conforme indicado na Tabela 11.

Extrato [mg/ml]	DPPH consumido (%)	Equação da Reta R <sup>2</sup>
Rúcula orgânica		
0,01	6,5 ± 0,10	y = 71,3x + 6,914 R <sup>2</sup> = 0,965
0,1	23,0 ± 0,85	
1	77,3 ± 0,74	
Almeirão orgânico		
0,01	5,3 ± 0,20	y = 74,11x + 3,333 R <sup>2</sup> = 0,995
0,1	13,1 ± 0,20	
1	77,2 ± 0,36	
Alface orgânica		
0,01	8,3 ± 0,04	y = 65,45x + 7,750 R <sup>2</sup> = 0,956
0,1	23,1 ± 0,35	
1	72,3 ± 0,93	
Rúcula convencional		
0,01	7,7 ± 0,12	y = 65,63x + 4,760 R <sup>2</sup> = 0,988
0,1	14,1 ± 0,32	
1	70,1 ± 1,20	
Almeirão convencional		
0,01	3,4 ± 0,10	y = 61,35x + 6,254 R <sup>2</sup> = 0,940
0,1	23,1 ± 0,25	
1	66,6 ± 0,61	
Alface convencional		
0,01	8,5 ± 0,20	y = 57,49x + 5,554 R <sup>2</sup> = 0,979
0,1	14,9 ± 0,38	
1	62,7 ± 0,51	
Vitamina C		
[x 10 <sup>-3</sup> mg/ml]		
5	8,2 ± 0,30	y = 1,378x + 2,517 R <sup>2</sup> = 0,991
10	18,7 ± 0,25	
25	40,2 ± 0,41	
50	69,4 ± 0,70	

Tabela 11 – Capacidade antioxidante dos extratos de alface, rúcula e almeirão (mg/ml), obtidos de cultivos orgânico e convencional, avaliada pelo método do DPPH, usando-se a vitamina C como padrão de referência.

Segundo Qian e Nihorimbere (2004) e Chandrasekar et al. (2006), extratos muito concentrados (maior do que 0,5 g/ml) influenciam negativamente os resultados da avaliação da capacidade antioxidante pelo método de redução do DPPH, devido à interferência dos pigmentos existentes nos alimentos.

No entanto, nesse trabalho, quando a capacidade antioxidante dos extratos em reduzir o DPPH foi expressa em função da quantidade de radical livre consumido, conforme demonstrado na Figura 22, pode-se observar que (1) o efeito antioxidante é dose-dependente; (2) que todos os extratos na concentração 1mg/ml foram capazes de reduzir mais de 60% a quantidade de DPPH e que (3) todos os extratos das hortaliças orgânicas, na concentração de 1 mg/ml, demonstraram ação antioxidante mais efetiva quando comparados com os extratos convencionais.

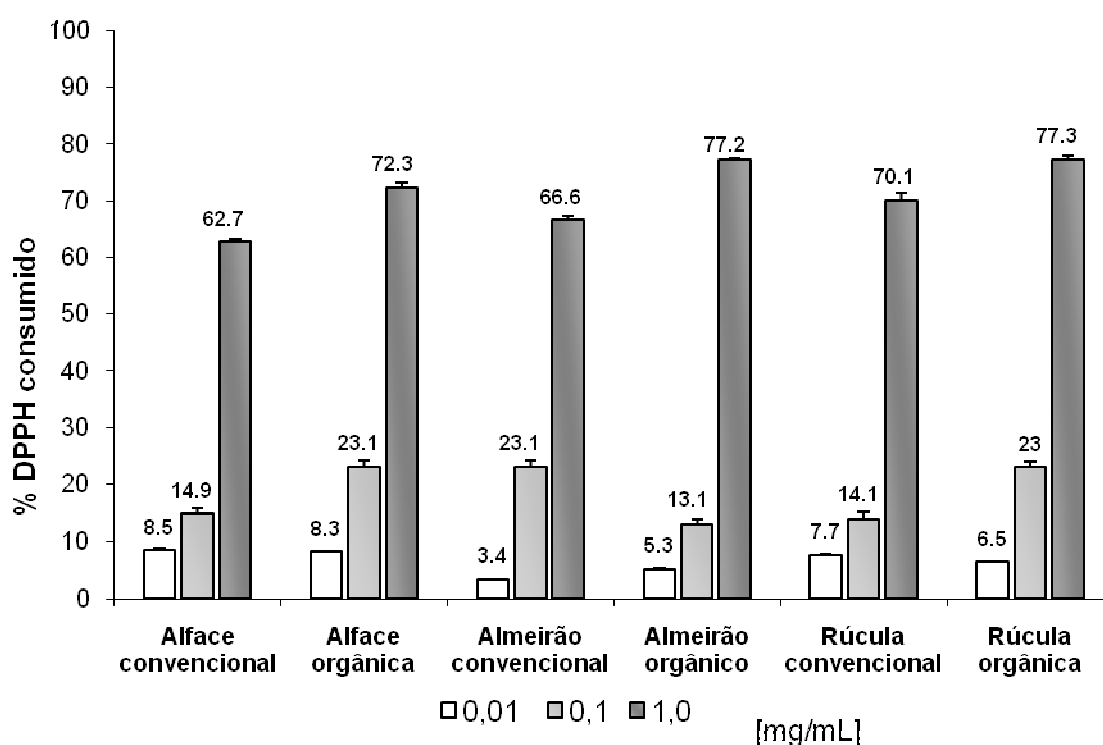


Figura 22 - Avaliação da capacidade antioxidante dos extrato das hortaliças pelo método de redução do radical DPPH\*

Nota: concentrações crescentes (0,01 – 1 mg/ml) dos extratos indicados foram tratadas com solução de DPPH\* por 30 min a temperatura ambiente. Cada coluna representa a porcentagem média  $\pm$  1DP de DPPH\* consumido, obtida de três experimentos independentes, realizados em triplicata.

Os extratos de alface orgânica e convencional, analisadas nesse estudo, reduziram na concentração de 1 mg/ml, respectivamente  $72,3 \pm 0,93\%$  e  $62,7 \pm 0,51\%$  do DPPH, possuindo capacidade antioxidante superior aos extratos analisados por Melo et al. (2006), uma vez que esses autores relataram redução de 36% e 50% do DPPH no extratos metanólicos de alface crespa e lisa, respectivamente.

Os extratos de rúcula e almeirão, independente do tipo de cultivo, apresentaram ação antioxidante superiores ao demonstrados no estudo desenvolvido por Matsuura et al. (2003) e Pieroni et al. (2002).

Os extratos de rúcula orgânica e convencional analisados foram capazes de reduzir, na concentração de 1 mg/ml,  $77,3 \pm 0,74$  e  $70,1 \pm 1,20$  o radical livre DPPH, ação muito superior ao descrito por Matsuura et al. (2003), que relataram que a capacidade antioxidante dos extratos de rúcula foi inferior a 20% de redução, indicando baixa efetividade antioxidante. Resultados semelhantes foram obtidos por Pieroni et al. (2002) ao analisar extratos etanólicos de rúcula na concentração de 2,5 mg/ml, onde a redução do radical livre foi de 30%.

Comparando esses dados com os obtidos nesse trabalho foi possível verificar que independente do tipo de cultivo, as amostras de rúcula foram mais efetivas, uma vez que reduziram na concentração de 1 mg/ml mais de 70% o DPPH inicial.

Muitos extratos de plantas possuem propriedades antioxidantes devido a composição de fitoquímicos, incluindo os fenólicos. Segundo Aqil, Ahmad e Mehmood (2006), extrato metanólico de folhas de almeirão foi capaz de reduzir cerca de 73% do DPPH, apresentando 76,83 mg/ml de fenólicos (AQIL, AHMAD e MEHMOOD, 2006).

Entre os fitoquímicos presentes no almeirão destacam-se os compostos fenólicos e terpenos, os quais já foram isolados das partes aéreas (KIESEL e ZIELINSKA, 2001; MULLINACCI et al., 2001; PIERONI et al., 2002). A atividade antioxidante obtida pelos extratos de almeirão orgânico ( $13,1 \pm 0,20\%$ ) e convencional ( $23,1 \pm 0,25\%$ ) foi pelo menos duas vezes superior ao efeito obtido pelos extratos desta mesma hortaliça, na concentração de 0,1 mg/ml, analisados por El e Karakaya (2004), os quais relataram redução de apenas 5,95% do radical livre DPPH. Por outro lado, extratos de almeirão mais concentrados (2,5 mg/ml) avaliados por Pieroni et al. (2002) foram capazes de reduzir em cerca de 30% o radical livre.

Extratos de rabanete nas concentrações de 0,05 g/ml, 0,1 g/ml e 0,2 g/ml reduziram 35,65%, 60,77% e 71,22% o radical livre DPPH (EL e KARAKAYA, 2004), ação superior inclusive a rutina (0,2 mg/ml) que foi de 52,93 %. No entanto, extratos de almeirão apresentaram ação antioxidante inferior, reduzindo 5,95% (concentração 0,1 g/ml) e 33,82% (concentração 0,2 g/ml) (EL e KARAKAYA, 2004).

Foi possível verificar que na concentração de 1 mg/ml todos os extratos das hortaliças orgânicas foram significativamente mais efetivos ( $p \leq 0,05$ ) na redução do DPPH quando comparados aos respectivos extratos obtidos na cultura convencional, conforme demonstrado na Figura 24, reduzindo em mais de 70% o DPPH.

#### 4.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

O método de Folin-Ciocalteu (SWAUN e HILLIS, 1959; WETTASINGHE e SHAHIDI, 1999) permite quantificar flavonóides, antocianinas e compostos fenólicos presentes nas amostras. A Tabela 12 demonstra a quantidade total de compostos fenólicos dos extratos provenientes das diferentes hortaliças orgânicas e convencionais, obtidas por extração metanólica.

HORTALIÇA	EXTRATOS ORGÂNICOS	EXTRATOS CONVENCIONAIS
Rúcula	$126,84 \pm 4,46^{a*,A**}$	$90,78 \pm 2,23^{b,D}$
Alface	$108,72 \pm 2,34^{c,B}$	$91,22 \pm 0,91^{d,D}$
Almeirão	$92,15 \pm 1,09^{e,C}$	$81,04 \pm 3,64^{f,E}$

Tabela 12 - Teor de fenólicos totais, expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de hortaliça

Nota: Os valores representam média  $\pm$  desvio padrão obtidos por meio de três determinações de compostos fenólicos totais.

\*Valores com letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

O teor de compostos fenólicos dos extratos, em ordem decrescente, foram: rúcula orgânica ( $126,84 \pm 4,46$  mg EAG/ 100 g), alface orgânica ( $108,72 \pm 2,34$  mg EAG/ 100 g), almeirão orgânico ( $92,15 \pm 1,09$  mg EAG/ 100 g), alface

convencional ( $91,22 \pm 0,91$  mg EAG/ 100 g), rúcula convencional ( $90,78 \pm 2,23$  mg EAG/ 100 g), e almeirão convencional ( $81,04 \pm 3,64$  mg EAG/ 100 g).

É reconhecido que a ação antioxidante de extratos de plantas, frutas e hortaliças deve-se, preponderantemente ao fato de possuírem em sua composição compostos fenólicos (CAO , SOFIC e PRIOR, 1996; GUO et al., 2001; MENSOR , MENEZES , LEITAO , REIS , SANTOS et al., 2001; KOLEVA et al., 2002; EL e KARAKAYA, 2004).

Um grupo de pesquisadores propôs uma classificação relacionando o teor de compostos fenólicos com a potencial ação antioxidante. Para tanto, avaliaram o teor de compostos fenólicos de 33 vegetais frequentemente consumidos na Índia e observaram que houve grande variação no teor dos fenólicos (34 mg a 400 mg de catecol /100g base úmida), e propuseram a seguinte classificação: **a)** vegetais que apresentassem teor acima de 200 mg / 100 g base úmida, foram classificados como alto teor de substâncias antioxidante; **b)** vegetais que apresentassem teores de fenólicos variando de 100 a 200 mg / 100 g foram englobados na classe intermediária, ou seja, com teor médio de substâncias antioxidante; e **c)** aqueles que apresentassem teor de fenólicos inferior a 100 mg / 100 g foram classificados como baixa ação antioxidante (KAUR e KAPOOR, 2002).

Baseado na classificação proposta por Kaur e Kappor (2002), os extratos de rúcula orgânica e alface orgânica possuem ação antioxidante intermediária, e todos os demais extratos apresentam baixo potencial antioxidante.

Embora existam diversos trabalhos determinando o teor de compostos fenólicos de hortaliças e outros que correlacionam esse teor com a atividade antioxidante (VELIOGLU et al., 1998; CHU et al., 2002; KAUR e KAPOOR, 2002; CHEUNG , CHEUNG e OOI, 2003; KIM et al., 2003; LLORACH et al., 2003; NINFALI e BACCHIOCCA, 2003; MARINOVA , RIBAROVA e ATANASSOVA, 2005; YOUNG et al., 2005; SU et al., 2007), são escassos aqueles que objetivam avaliar a influência do sistema de cultivo (orgânico, hidropônico e convencional).

O enfoque principal na quantificação dos compostos fenólicos dos extratos avaliados foi o de verificar a influência do tipo de cultivo no teor destas substâncias reconhecidas pela sua ação protetora ao organismo humano. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 12 foi possível verificar que os extratos obtidos das hortaliças provenientes de cultivo orgânico apresentam teor de compostos

fenólicos superiores significativamente ( $p \leq 0,05$ ) aos extratos obtidos das hortaliças convencionais.

Segundo dados publicados pela Agência Francesa de Seguridade e Sanidade dos Alimentos (AFSSA) dos 11 artigos científicos analisados, 8 relataram teores de fenólicos significativamente superiores em frutas ou hortaliças orgânicas (AFSSA, 2003).

Marinova, Ribarova e Atanassova (2005), quantificaram em extratos de rúcula cerca de 160 mg / 100 g de compostos fenólicos, valores superiores ao determinado nesse trabalho (126, 84 e 90,78 mg / 100 g).

Embora os extratos de almeirão orgânico e convencional tenham apresentado os menores teores de compostos fenólicos entre as hortaliças avaliadas nesse trabalho, esse teor foi superior ao encontrado por Aquil, Ahmad e Mehmood (2006) onde extratos obtidos das folhas de almeirão apresentaram 76,83 mg / ml de fenólicos. Já Schaffer et al. (2005), ao determinarem a concentração de fenólicos nos extratos etanólicos das folhas de almeirão coletados na Grécia, Itália e Espanha verificou teores de 48 mg / g, 65 mg / g e 107 mg / g, respectivamente.

Como anteriormente relatado, os compostos fenólicos de origem vegetal podem ser divididos em dois grupos: os flavonóides e os não flavonóides (AHERNE e O'BRIEN, 2002). Em vegetais são comumente encontrados os flavonóides miricetina, quercitina, kampferol e apigenina (HERTOG, HOLLMAN e KATAN, 1992; MIEAN e MOHAMED, 2001b; KIM et al., 2003; NINFALI e BACCHIOCCA, 2003; SANO et al., 2003). Hertog, Hollman e Katan (1992) determinaram o conteúdo de flavonóides de extratos metanólicos de 28 vegetais e 9 frutas, e reportaram que os níveis de quercitina da maioria das partes comestíveis dos vegetais foi geralmente abaixo de 10 mg / kg.

Extratos metanólicos de alface apresentaram teores de compostos fenólicos de 116,2 mg / 100 g, sendo que desses 76,5 mg / 100 g eram flavonóides (MARINOVA, RIBAROVA e ATANASSOVA, 2005), valores semelhantes ao determinado nesse trabalho, onde os extratos de alface orgânico e convencional, apresentaram teores de 108,72 mg / 100g e 91,22 mg / 100g, respectivamente.

O teor de compostos fenólicos de extratos alface variou de 8,4 a 12,9 mg / 100 g peso seco (NICOLLE, et al., 2004). Levando em consideração que a alface apresenta em média 97 % de umidade (TACO, 2006), o teor de compostos fenólicos em base úmida foi semelhante aos teores encontrados nesse trabalho.

Melo et al. (2006) analisaram a capacidade antioxidante e o teor de fenólicos de 14 vegetais adquiridos em São Paulo, Brasil, dentre esses, as amostras de alface crespa e lisa apresentaram teores de compostos fenólicos de 22,6 mg / 100 g e 13,85 mg / 100 g, respectivamente.

A biossíntese dos compostos fenólicos em plantas está fortemente relacionado com o cultivar, estágio de maturidade, condições ambientais, especialmente incidência de luz e modo de fertilização (KAHKONEN et al., 1999; KAUR e KAPOOR, 2001; KOLEVA et al., 2002; CARIS-VEYRAT et al., 2004; NICOLLE, et al., 2004; MELO et al., 2006).

Devido o tipo adubação empregada na agricultura orgânica os níveis de nitrogênio, potássio e enxofre são mais elevados (CARIS-VEYRAT et al., 2004) e desta forma espera-se que o teor de compostos fenólicos em alimentos produzidos organicamente seja superior aos convencionais. Os resultados apresentados na Tabela 11 corroboram com Caris Veyrat et al.. (2004), uma vez que pode-se verificar que os extratos obtidos das hortaliças provenientes de cultivo orgânico apresentam teores de compostos fenólicos superiores significativamente ( $p \leq 0,05$ ) aos extratos obtidos das hortaliças convencionais.

Por essa razão, destaca-se mais uma vez a relevância desse estudo, que embora tenha sido realizado em pequena escala, preocupou-se em controlar o maior número de variáveis possíveis, a fim de possibilitar a comparação entre as hortaliças cultivadas na horta orgânica e convencional. Desta forma, como relatado, os extratos metanólicos das hortaliças orgânicas previamente cultivadas (alface, rúcula e almeirão), coletadas no ponto de maturidade comercial, e analisadas nesse trabalho, apresentaram superioridade no teor de compostos fenólicos em relação aos extratos metanólicos obtidos das hortaliças cultivadas na horta convencional.



## 5 CONCLUSÃO

Reconhecidamente as hortaliças exercem efeitos benéficos à saúde de quem as consome regularmente devido, em grande parte, à presença de substâncias com ação antioxidante, tais como os compostos fenólicos. Considerando-se o conjunto dos resultados, todas as hortaliças estudadas apresentaram ação antioxidante, entretanto a intensidade da ação foi diferenciada, tanto entre as espécies de hortaliças como em função do tipo de cultivo.

Embora tenha sido demonstrada variação no efeito antioxidante em função da concentração testada, ficou evidente a superioridade das hortaliças provenientes de cultivo orgânico quando comparada às obtidas no sistema convencional. É possível que a maior efetividade da ação antioxidante das amostras de alface, rúcula e almeirão orgânicos esteja associada ao maior teor de compostos fenólicos encontrado nessas hortaliças.

No entanto, cabe ressaltar a necessidade de mais estudos com o intuito de avaliar as diferenças na qualidade nutricional e nas propriedades funcionais de alimentos produzidos em diferentes sistemas de cultivo, quer seja orgânico, hidropônico ou convencional.

## REFERÊNCIAS

- AAO. **Normas de produção orgânica AAO.** Disponível em: <<http://www.aao.org.br/norma210904.pdf>>. Acesso em 10 de maio de 2005.
- AFSSA, A.F.D.S.S.D.A. **Evaluation des risques et bénéfices nutritionnels et sanitaires des aliments issus de l'Agriculture biologique.** Paris: AFSSA. 131 p. 2003.
- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**, v.18, n.1, 2002.
- AMAROWICH, R.; PEGG, R.B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J.A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, v.84, p.551-562, 2004.
- ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutat Res**, v.350, n.1, p.103-8, 1996.
- ANDERSON, D.; PHILLIPS, B.J. Comparative in vitro and in vivo effects of antioxidants. **Food Chem Toxicol**, v.37, n.9-10, p.1015-25, 1999.
- ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, v.127, n.1, p.183-98, 2002.
- AQIL, F.; AHMAD, I.; MEHMOOD, Z. Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Medicinal Plants. **Turj J. Biol**, v.30, p.177-183, 2006.
- ARBOS, K.A. **Estudo do potencial antioxidante de vegetais da familia Cruciferae de diferentes cultivos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas.).Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 87 p. p., 2004
- ARTS, M.J.T.J.; HAENEN, G.R.M.M.; VOSS, H.P.; BAST, A. Antioxidant capacity of reaction products limits the aplicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. **Food and Chemical Toxicology**, v.42, n.1, p.45-49, 2004.
- AYDEMIR, T.; OZTURK, R.; BOZKAYA, L.A.; TARHAN, L. Effects of antioxidant vitamins A, C, E and trace elements Cu, Se on CuZn SOD, GSH-Px, CAT and LPO levels in chicken erythrocytes. **Cell Biochem Funct**, v.18, n.2, p.109-15, 2000.
- AZEVEDO, E. Qualidade alimentar dos produtos integrais orgânicos. In: INSULAR, E. **Alimentos orgânicos.** Florianópolis., ed.1ª, p.43-62, 2003
- BEAL, M.F. Oxidatively modified proteins in aging and disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v.32,, n.9, p. 797-803, 2002.
- BENAVENTE, G.O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; ORTUNO, A.; DEL-RIO, J.A. Antioxidant activity of phenolic extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**, v.68, p.457-462, 2000.

- BEZERRA NETO, F.; BARROS JÚNIOR, A.P.; SILVA, E.O.; SILVEIRA, L.M.; AROUCHA, E.M.M. Qualidade da alface em sistemas consorciados com cenoura sob diferentes densidades populacionais das culturas componentes. **Caatinga**, v.18, n.3, p.169-175, 2005.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.
- BLOIS, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. **Nature**, v.181, p.1199-1200, 1958.
- BOAS, B.L.; MENEZES, P.R.; BUDEL, J.M.; SANTOS, C.A.M. *In vitro* antioxidant activity study of five species of carqueja. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.32, n.suplemento 2, p.228, 2003.
- BOFF, J.; MIN, D.B. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods **Comp Rev Food Sci Saf** v.1, p.58–72, 2002.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical methods. **Lebensm Wiss Technol**, v.30, p.609-615, 1997.
- BONNESEN, C.; EGGLESTON, I.M.; HAYES, J.D. Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines. **Cancer Res**, v.61, n.16, p.6120-30, 2001.
- BOREK, C. Antioxidant health effects of aged garlic extract. **J. Nutr.**, v.131, n.3, p.1010S-1015S, 2001.
- BOURN, D.; PRESCOTT, J. A comparasion of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced food. **Crit. Rev. Food Science Nutrition**, v.42, n.1, p.1-34, 2002.
- BRACA, A.; DE TOMMASI, N.; BARI, L.D.; PIZZA, C.; POLITI, M.; MORELLI, I. Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis*. **J of Natural Products**, v.64, p.892-895, 2001.
- BRACA, A.; SORTINO, C.; POLITI, M.; MORELLI, I.; MENDEZ, J. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. **J Ethnopharmacol**, v.79, n.3, p.379-81, 2002.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30, 1995.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutr Rev**, v.56, n.11, p.317-33, 1998.
- BUETTNER, G.R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, a-tocopherol, and ascorbate **Arch Biochem Biophys**, v.200, p.535–543, 1993.
- BURNS, J.; GARDNER, P.T.; O'NEIL, J.; CRAWFORD, S.; MORECROFT, I.; MEPHAIL, D.B.; LISTER, C.; MATTHEWS, D.; MACLEAN, M.R.; LEAN, M.E.J.; DUTHIE, G.; CROZIER, A. Relationship among antioxidant activity vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. **J Agric Food Chem**, v.48, n.2, p.220-230, 2000.

- CAI , Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer **Life Sciences**, v.74, p.2157-2184, 2004.
- CAMARGO FILHO, W.P.; MAZZEI, A.R. Mercado de verduras: planejamento, estratégia e comercialização. **Informações Econômicas**, v.31, n.3, p.45-54, 2001.
- CÂNDIDO, L.M.B.; CAMPOS, A.M. Alimentos funcionais: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.193-203, 1995.
- CAO, G.; BOOTH, S.L.; SADOWSKI, J.A.; PRIOR, R.L. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. **Am J Clin Nutr**, v.68, n.5, p.1081-7, 1998.
- CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R.L. Antioxidant capacity of tea and common vegetable. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.44, p.3426-3431, 1996.
- CARIS-VEYRAT, C.; AMIOT, M.J.; TYSSANDIER, V.; GRASSELLY, D.; BURET, M.; MIKOLAJCZAK, M.; GUILLAND, J.C.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; BOREL, P. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. **J. Agric. Food Chem**, v.52, n.21, p.6503-6509, 2004.
- CARR, A.; FREI, B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? **Faseb J**, v.13, n.9, p.1007-24, 1999.
- CHANDRASEKAR, D.; MADHUSUDHANA, K.; RAMAKRISHNA, S.; DIWAN, P. Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: a sensitive screening methods for polyherbal formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.40, p.460-464, 2006.
- CHAUDIERE, J.; FERRARI-ILIOU, R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. **Food Chem Toxicol**, v.37, n.9-10, p.949-62, 1999.
- CHEN, Z.Y. Antioxidant activity of natural flavonoids in governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.79, n.2, p.157-163, 1996.
- CHEUNG, L.M.; CHEUNG, P.C.K.; OOI, V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, v.80, n.2, p.249-255, 2003.
- CHOE, E.; MIN, D.B. Chemistry and Reactions of Reactive Oxygen Species in Foods **Journal of Food Science** v.70, n.9, p.142–159, 2005.
- CHOI, C.W.; KIM, S.C.; HWANG, S.S.; CHOI, B.K.; AHN, H.J.; LEE, M.Y.; PARK, S.H.; KIM, S.K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, v.136, n.1161-1168, 2002.
- CHOW, C.K. Antioxidant nutrients and environmental health: introduction. **Toxicology**, v.180, n.1, p.1-3, 2002.

- CHU, Y.F.; SUN, J.; WU, X.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. **J Agric Food Chem**, v.50, n.23, p.6910-6, 2002.
- COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.7, p.66-74, 1996.
- DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTE, F.; GAZZANI, G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1449-1454, 2000.
- DAROLT, M.R. Comparação entre a qualidade do alimento orgânico e a do convencional. In: STRINGHETA, P. C. e MUNIZ, J. N. **Alimentos orgânicos: produção, tecnologia e certificação**. Viçosa: Editora UFV, p.289-312, 2003a
- \_\_\_\_\_. **A qualidade dos alimentos orgânicos**. Disponível em: <http://www.planetaorganico.com.br/daroltqualid.htm>. Acesso em: 19 de setembro de 2003.
- DASHWOOD, R.H.; FONG, A.T.; ARBOGAST, D.N.; BJELDANES, L.F.; HENDRICKS, J.D.; BAILEY, G.S. Anticarcinogenic activity of indole-3-carbinol acid products: ultrasensitive bioassay by trout embryo microinjection. **Cancer Res**, v.54, n.13, p.3617-9, 1994.
- DEKKER, M.; VERKERK, R.; JONGEN, W.M.F. Predictive modeling of health aspects in the food production chain: a case study on glucosinolates in cabbage. **Trends in food Science & Technology**, v.11, p.174-181, 2000.
- DELAQUIS, P.; MAZZA, G. Functional vegetable products. In: MAZZA, G. **Functional Foods: biochemical and processing aspects**. Pensilvânia: Technomic, p.193-201, 1998
- DEMIREZER, L.O.; KURUUZUM-UZ, A.; BERGERE, I.; SCHIEWE, H.J.; ZEECK, A. The structures of antioxidant and cytotoxic agents from natural source: anthraquinones and tannins from roots of *Rumex patientia*. **Phytochemistry**, v.58, n.8, p.1213-7, 2001.
- DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Avaliação da Atividade Antioxidante utilizando sistema B-Caroteno/Ácido Linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26, n.6, p.446-452, 2006.
- DUNFORD, H.B. Oxidations of iron (II)/(III) by hydrogen peroxide: from aquo to enzyme **Coordination Chemistry Reviews**, v.233-234, p.311-318, 2002.
- DUTHIE, S.J.; GARDNER, P.T.; MORRICE, P.C.; WOOD, S.G.; PIRIE, L.; BESTWICK, C.C.; MILNE, L.; DUTHIE, G.C. DNA stability and lipid peroxidation in vitamin E-deficient rats in vivo and colon cells in vitro: modulation by the dietary antocyanin, cyanidin-3-glycoside. **European Journal of Nutrition**, v.44, p.195-203, 2005.
- EDGE, R.; LAND, E.J.; MCGARVEY, D.J.; BURKE, M.; TRUSCOTT, G. The reduction potential of the carotene +/-carotene couple in an aqueous micro-heterogeneous environment. **FEBS Lett** v.471, n.2-3, p.125-127, 2000.
- EL, S.N.; KARAKAYA, S. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. **Int. J Food Sci Nutr**, v.55, p.67-74, 2004.

- FABRE, N.; URIZZI, P.; SOUCHARD, J.P.; FRECHARD, A.; CLAPAROLS, C.; FOURASTE, I.; MOULIS, C. An antioxidant sinapic acid ester isolated from *Iberis amara*. **Fitoterapia**, v.71, n.4, p.425-8, 2000.
- FAVARO-TRINDADE, C.S.; MARTELLO, L.S.; MARCATTI, B.; MORETTI, T.S.; PETRUS, R.R.; ALMEIRDA, E.; FERRAZ, J.B.S. Efeito dos Sistemas de Cultivo Orgânico, Hidropônico e Convencional na Qualidade de Alface Lisa. **Braz. J. Food Technol.**, v.10, n.2, p.111-115, 2007.
- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Méd. Bras.**, v.43, n.1, p.61-68, 1997.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV. 402 p. 2000.
- FRAGA FILHO, C. Radicais Livres: vilões ainda em estudo. **Ciência Hoje**, v.27, p.60-62, 2003.
- FRANZIN, S.M.; MENEZES, N.L.; GARCIA, D.C.; ROVERSI, T. Avaliação do vigor de sementes de alface nuas e peletizadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p.114-118, 2004.
- FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **J Exp Biol**, v.201 ( Pt 8), p.1203-9, 1998.
- GIADA, M.L.R.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante in vitro de compostos fenólicos de alimentos. **Nutrire**, v.28, p.91-107, 2004.
- GIL, M.I.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; HESS-PIERCE, B.; HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **J Agric Food Chem**, v.48, n.10, p.4581-9, 2000.
- GREGORY III, J.F. Vitamins In: FENNEMA, O. R. **Food chemistry**. New York: Marcel Dekker., ed.3, p.431–530, 1996
- GUO, J.; LEE, H.; CHIANG, S.; LIN, F.; CHANG, C. Antioxidant properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan. **Journal of Food Drug Analysis**, v.9, n.2, p.96-101, 2001.
- HALL, C.A.; CUPPETT, S.L. Structure-activities of natural antioxidant. In: ARUOMA, O. I. e CUPPETT, S. L. **Antioxidant methodology in vivo and in vivo concepts**. Illinois: AOCS press, p.141-172, 1997
- HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease **Annual Review of Nutrition**, v.16, p.33-50, 1996.
- \_\_\_\_\_. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). **Free radical research**, v.31, p.261-272, 1999.
- HANASAKI, Y.; OGAWA, S.; FUKUI, S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. **Free Radic Biol Med**, v.16, n.6, p.845-50, 1994.

- HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochem Pharmacol**, v.32, n.7, p.1141-8, 1983.
- HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacol Ther**, v.96, n.2-3, p.67-202, 2002.
- HEIJNEN, C.G.; HAENEN, G.R.; OOSTVEEN, R.M.; STALPERS, E.M.; BAST, A. Protection of flavonoids against lipid peroxidation: the structure activity relationship revisited. **Free Radic Res**, v.36, n.5, p.575-81, 2002.
- HERTOG, M.G.; FESKENS, E.J.; HOLLMAN, P.C.; KATAN, M.B.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. **Lancet**, v.342, n.8878, p.1007-11, 1993.
- HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetable and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.40, n.12, p.2379-2383, 1992.
- HIRANO, R.; SASAMOTO, W.; MATSUMOTO, A.; ITAKURA, H.; IGARASHI, O.; KONDO, K. Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)**, v.47, n.5, p.357-62, 2001.
- HOGG, J.S.; LOHMANN, D.H.; RUSSELL, K.E. The kinetics of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with phenols. **Canadian Journal of Chemistry**, v.39, p.1588-1594, 1961.
- HSU, P.C.; GUO, Y.L. Antioxidant nutrients and lead toxicity. **Toxicology**, v.180, p.33-44, 2002.
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.1841-1856, 2005.
- HUANG, H.; WANG, B. Antioxidant capacity and lipophilic contents of seaweeds collected from the Quindao Coastline. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.4993-4997, 2004.
- JUSTESEN, U.; KNUTHSEN, P.; LETH, T. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavonones in fruits, vegetable and beverages by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection and mass spectrometric detection. **journal of Chromatography**, v.799, p.101-110, 1998.
- KAHKONEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; P., R.J.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem**, v.47, n.10, p.3954-3962, 1999.
- KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **Intl J Food Sci Tech** v.36, p.703-725, 2001.
- \_\_\_\_\_. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Sciences and Technology**, v.37, p.153-161, 2002.
- KHATHOUNIAN, C.A. Almeirão: minha doce vida amarga. **Agroecologia**, v.2, n.8, p.11-12, 2001.
- KIESEL, W.; ZIELINSKA, K. Guaianolides from Cichorium intybus and structure revision of Cichorium sesquiterpene lactones. **Phytochemistry**, v.57, p.523-527, 2001.

- KIM, D.O.; CHUN, O.K.; KIM, Y.J.; MOON, H.Y.; LEE, C.Y. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. **J Agric Food Chem**, v.51, n.22, p.6509-15, 2003.
- KIM, J.K.; NOH, J.H.; LEE, S.; CHOI, J.S.; SUH, H.; CHUNG, H.Y.; SONG, Y.O.; CHOI, W.C. The first total synthesis of 2,3,6-tribromo-4,5-dihydroxybenzyl methyl ether (TDB) and its antioxidant activity. **Bull. Korean Chem. Soc**, v.23, n.5, p.661-662, 2002.
- KOJIMA, K.; MIZUNO, K.; MIYAZAKI, M. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v.26, n.4617, p.1199-1201, 1958.
- KOLECKAR, V.; JUN, D.; OPLETA, L.; JAHODAR, L.; KUČA, K. Assay of radical scavenging activity of antidotes against chemical warfare agents by DPPH test using sequential injection technique. **J. Appl. Biomed.**, v.5, p.81-84, 2007.
- KOLEVA, II; VAN BEEK, T.A.; LINSSEN, J.P.; DE GROOT, A.; EVSTATIEVA, L.N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochem Anal**, v.13, n.1, p.8-17, 2002.
- KONTOGIORGIS, C.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. Biological evaluation of several coumarin derivatives designed as possible anti-inflammatory/antioxidant agents. **J Enzyme Inhib Med Chem**, v.18, n.1, p.63-9, 2003.
- KURILICH, A.C.; TSAU, G.J.; BROWN, A.; HOWARD, L.; KLEIN, B.P.; JEFFERY, E.H.; KUSHAD, M.; WALLIG, M.A.; JUVIK, J.A. Carotene, tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of Brassica oleracea. **J Agric Food Chem**, v.47, n.4, p.1576-81, 1999.
- KUSS, F. **Agentes oxidantes e antioxidantes**. Disponível em: [http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/ag\\_oxid\\_antioxid.pdf](http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/ag_oxid_antioxid.pdf).
- LEAKE, D.S. Flavonoids and the oxidation of low-density lipoprotein. **Nutrition**, v.17, n.1, p.63-6, 2001.
- LEE, J.; KOO, N.; MIN, D.B. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.3, p.21-33, 2004.
- LEONARD, S.S.; CUTLER, D.; DING, M.; VALLYATHAN, V.; CASTRANOVA, V.; SHI, X. Antioxidant properties of fruit and vegetable juices: more to the story than ascorbic acid. **Ann Clin Lab Sci**, v.32, n.2, p.193-200, 2002.
- LIN, C.C.; HSU, Y.F.; LIN, T.C. Antioxidant and free radical scavenging effects of the tannins of Terminalia catappa L. **Anticancer Res**, v.21, n.1A, p.237-43, 2001.
- LLORACH, R.; ESPIN, J.C.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; FERRERES, F. Valorization of cauliflower (Brassica oleracea L. var. botrytis) by-products as a source of antioxidant phenolics. **J Agric Food Chem**, v.51, n.8, p.2181-7, 2003.
- LOMBARDI-BOCCIA, G.; LUCARINI, M.; LANZI, S.; AGUZZI, A.; CAPPELONI, M. Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums from conventional and organic productions: a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.1, p.90-94, 2004.



- LU, Y.; FOOD, L.Y. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). **Food Chemistry**, v.75, p.197-202, 2001.
- MAGKOS, F.; ARVANITI, F.; ZAMPELAS, A. Organic food: nutritious food or food for thought? A review of the evidence. **Int J Food Sci Nutr**, v.54, n.5, p.357-71, 2003.
- \_\_\_\_\_. Organic food: buying more safety or just peace of mind? A critical review of the literature. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v.46, n.1, p.23-56, 2006.
- MAGNANI, L.; GAYDOU, E.M.; HUBAUD, J.C. Spectrophotometric measurement of antioxidant properties of flavones and flavonols against superoxide anion. **Analytica Chimica Acta**, v.41, p.209-216, 2000.
- MANCINI-FILHO. Alimentos funcionais nas doenças cardiovasculares. In: COSTA, N. M. B. e ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais**. Viçosa: UFV, p.206, 2006
- MANCINI FILHO, J.; MANCINI, D.A.P. Prevenção de reações oxidativas: antioxidantes nos vegetais de consumo humano. **Funcionais & Nutracêuticos**, n.1, p.22-24, 2008.
- MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASSOVA, M. Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v.40, n.3, p.255-260, 2005.
- MATSUURA, H.; CHIJI, H.; ASAKAWA, C.; AMANO, M.; YOSHIHARA, T.; MIZUTANI, J. DPPH radical scavengers from dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*). **Biosci. Biotechnol. Biochem**, v.67, n.11, p.2311-2316, 2003.
- MAY, J.M. Ascorbate function and metabolism in the human erythrocyte. **Front Biosci**, v.3, p.D1-D10, 1998.
- MCGOWAN, J.C.; POWELL, T.; RAW, R. The rates of a,a-diphenyl-b-picrylhydrazyl with certain amines and phenols. **Journal of Chemical Society**, p.3103-3110, 1959.
- MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.639-644, 2006.
- MENEZES, N.L.; SANTOS, O.S.; SCHMIDT, D. Produção de sementes de alface em cultivo hidropônico. **Ciência Rural**, v.31, n.4, p.705-706, 2001.
- MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITAO, G.G.; REIS, A.S.; DOS SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITAO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res**, v.15, n.2, p.127-30, 2001.
- MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITAO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research**, v.15, p.127-130, 2001.
- MIEAN, K.H.; MOHAMED, S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. **J. Agric. Food Chem**, v.49, n.6, p.3106-3112, 2001a.

- \_\_\_\_\_. Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.6, p.3106-3112, 2001b.
- MIGUEL, G.; SIMÕES, M.; FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.C.; PEDRO, L.G.; CARVALHO, L. Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina* **Food Chemistry** v.86, n.2, p.183-188, 2004.
- MITJANS, M.; MARTÍNEZA, V.; CAMPOA, J.; ABAJOA, C.; LOZANOB, C.; TORRESB, J.L.; VINARDELL, M.P. Novel epicatechin derivatives with antioxidant activity modulate interleukin-1 $\beta$  release in lipopolysaccharide-stimulated human blood **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters** v.14, n.20, p.5031-5034, 2004.
- MOLYNEUX, P. The use the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal Science Technology**, v.26, n.2, p.211-219, 2004.
- MONDIN, M. Efeito de sistema de cultivo na produtividade e acúmulo de nitrato em cultivares de alface. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 88 p., 1996
- MORAIS, S.M.; CATUNDA JÚNIOR, F.E.A.; SILVA, A.R.A.; MARTINS NETO, J.S. Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais de espécies de Croton do Nordeste do Brasil. **Química Nova**, v.29, n.5, p.907-910, 2006.
- MOREIRA, D.P.; MONTEIRO, M.C.; RIBEIRO-ALVES, M.; DONANGELO, C.M.; TRUGO, L.C. Contribution of chorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.1399-1402, 2005.
- MOREIRA, M.A.; FONTES, P.C.R.; CAMARGOS, M.I. Interação zinco e fósforo em solução nutritiva influenciando o crescimento e a produtividade da alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.6, p.903-909, 2001.
- MULLER, K.; CARPENTER, K.L.; CHALLIS, I.R.; SKEPPER, J.N.; ARENDS, M.J. Carotenoids induce apoptosis in the T-lymphoblast cell line Jurkat E6.1. **Free Radic Res**, v.36, n.7, p.791-802, 2002.
- MULLINACCI, N.; INNOCENTI, M.; GALLORI, S.; ROMANI, A.; MARCA, G.; VINCIERI, F.F. Optimisation of the chromatographic determination of polyphenols in the aerial parts of *Chichorium intybus* L. **Chromatographia**, v.54, p.455-461, 2001.
- NICOLLE, C.; CARNAT, A.; FRAISSE, D.; LAMAISSON, J.J.; ROCK, E.; MICHEL, H.; AMOUROUX, P.; REMRSY, C. Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.84, n.15, p.2061-2069, 2004.
- NICOLLE, C.; CARNAT, A.; FRAISSE, D.; LAMAISSON, J.L.; ROCK, E.; MICHEL, H.; AMOUROUX, P.R., C. . Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). **J. Sci. Food Agric**, v.84, n.15, p.2061-2069, 2004.
- NINFALI, P.; BACCHIOCCA, M. Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions. **J Agric Food Chem**, v.51, n.8, p.2222-6, 2003.

- NOVO, M.C.S.S.; TRANI, P.E.; MINAMI, K. Desempenho de três cultivares de almeirão sob cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.1, p.84-87, 2003.
- OHSE, S.; DOURADO NETO, D.; MANFRON, P.A.; SANTOS, O.S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.181-185, 2001.
- OLIVEIRA, C.P.M.S. **Radicais livres e estresse oxidativo**. Disponível em: [http://www.fugesp.org.br/Revistas/nutricao/Nutric\\_04/nutric4\\_indice.htm](http://www.fugesp.org.br/Revistas/nutricao/Nutric_04/nutric4_indice.htm). 2003.
- PIERONI, A.; JANIAC, V.; DURR, C.M.; LUDEKE, S.; TRACHSEL, E.; HEINRICH, M. In vitro Antioxidant Activity of Non-cultivated Vegetables of Ethnic Albanians in Southern Italy. **Phytother. Res.**, v.16, p.467-473, 2002.
- PODDA, M.; GRUNDMANN-KOLLMANN, M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. **Clin Exp Dermatol**, v.26, n.7, p.578-82, 2001.
- POKORNY, J. Major factors affecting the autoxidation in lipids. In: CHAN, H. **Autoxidation of unsaturated lipids**. London: Academic Press, p.141-206, 1987
- POLYAKOV, N.E.; LESHINA, T.V.; KONOVALOVA, T.A.; KISPERT, L.D. Carotenoids as scavengers of free radicals in a Fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, v.31, n.3, p.398-404, 2001.
- QIAN, H.; NIHORIMBERE, V. Antioxidant power of phytochemicals from Psidium guajava leaf. **Journal of Zhejiang University SCIENCE**, v.5, n.6, p.676-683, 2004.
- RAO, A.V.; AGARWAL, S.V., P. 305 - 323, 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. **Nutrition Research**, v.19, p.305-323, 1999.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n.9-10, p.1231-1237, 1999.
- REGHIN, M.Y.; OTTO, R.F.; OLINIK, J.R.; JACOBY, C.F.S. Efeitos do espaçamento e do número de mudas por cova na produção de rúcula nas estações de outono e inverno. **Cienc. Agrotec.**, v.29, n.5, p.953-959, 2005.
- RENZ, S.V. **Oxidação e antioxidantes**. Disponível em: [http://www5.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/oxid\\_antiox.pdf](http://www5.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/oxid_antiox.pdf). Acesso em 12 de setembro de 2003.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic Biol Med**, v.20, n.7, p.933-56, 1996.
- SANCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. **Food Sci. Tech. Int.**, v.8, n.3, p.121-137, 2002.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N.N.; ANGELES, F.M.; MELCHOR, V.V.; CONDEZO, L.A.; LAO, J.; MILLER, M.J.S. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lipidium meyenii*). **Food Chemistry**, v.79, p.207-213, 2002.

- SANO, M.; YOSHIDA, R.; DEGAWA, M.; MIYASE, T.; YOSHINO, K. Determination of peroxy radical scavenging activity of flavonoids and plant extracts using an automatic potentiometric titrator. **J Agric Food Chem**, v.51, n.10, p.2912-6, 2003.
- SCHAFER, S.; SCHMITT-SCHILLIG, S.; ECKERT, G.P. Antioxidant properties of mediterranean food plant extracts: geographical differences. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.56, n.1, p.115-124, 2005.
- SERAFINI, M.; BELLOCCO, R.; WOLK, A.; EKSTROM, A.M. Total antioxidant potential of fruit and vegetables and risk of gastric cancer. **Gastroenterology**, v.123, n.4, p.985-91, 2002.
- SHAHIDI, F. Antioxidant in food and food antioxidants. **Nahrung**, v.44, n.3, p.158-163, 2000.
- SOARES, D.G.; ANDREAZZA, A.C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.1, p.95-100, 2005.
- SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.
- SORENSEN, M.; JENSEN, B.R.; POULSEN, H.E.; DENG, X.; TYGSTRUP, N.; DALHOFF, K.; LOFT, S. Effects of a Brussels sprouts extract on oxidative DNA damage and metabolising enzymes in rat liver. **Food Chem Toxicol**, v.39, n.6, p.533-40, 2001.
- SOUSSELIER, L.; BERTHON, J.Y. Phytobioactives and their role in preventing skin aging. **Happi**, v.10, p.93-96, 1998.
- SPIILKOVA, J.; DUSEK, J. [Natural substances with antioxidant activity]. **Ceska Slov Farm**, v.45, n.6, p.296-301, 1996.
- STADTMAN, E.R. Role of Oxidant Species in Aging. **Current Medicinal Chemistry**, v.11, n.9, p.1105-1112, 2004.
- STEINMETZ, K.A.; POTTER, J.D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. **Journal of American Dietetic Association**, v.96, n.10, p.1027-1039, 1996.
- STERTZ, S.C.; ROSA, M.I.S.; FREITAS, R.J.S. Qualidade nutricional e contaminantes da batata (*Solanum tuberosum* L., Solanaceae) convencional e orgânica na Região Metropolitana de Curitiba – Paraná. **Boletim do CEPPA**, v.23, n.2, p.383-396, 2005.
- SU, L.; YIN, J.; CHARLES, D.; ZHOU, K.; MOORE, J.; YU, L. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. **Food Chemistry**, v.100, p.990-997, 2007.
- SWAUN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric**, v.10, p.63-68, 1959.
- TACO. **Tabela de Composição de alimentos**. Campinas: NEPA-Unicamp. 105 p. 2006.
- TELEN, M.J.; KAUFMAN, R.E. The mature erythrocyte. In: LEE, G. R., et al. **Wintrobe's Clinical Hematology**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, ed.10 ed., p.193-228, 1999.

- TOIT, R.; VOLSTEEDT, Y.; APOSTOLIDES, Z. Comparasion of the antioxidant content of fruit, vegetable and teas measured as vitamin C equivalents. **Toxicology**, v.166, p.63-69, 2001.
- TSAKNIS, J.; LALAS, S. Extraction and identification of natural antioxidant from *Sideritis euroboea*, L. (Mountain Tea). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.6375-6381, 2005.
- VAN ACKER, F.A.; SCHOUTEN, O.; HAENEN, G.R.; VAN DER VIJGH, W.J.; BAST, A. Flavonoids can replace alpha-tocopherol as an antioxidant. **FEBS Lett**, v.473, n.2, p.145-8, 2000.
- VAN DEN BERG, R.; VAN VLIET, T.; BROEKMANS, W.M.; CNUBBEN, N.H.; VAES, W.H.; ROZA, L.; HAENEN, G.R.; BAST, A.; VAN DEN BERG, H. A vegetable/fruit concentrate with high antioxidant capacity has no effect on biomarkers of antioxidant status in male smokers. **J Nutr**, v.131, n.6, p.1714-22, 2001.
- VANG, O.; MORTENSEN, J.; ANDERSEN, O. Biochemical effects of dietary intake of different broccoli samples. II. Multivariate analysis of contributions of specific glucosinolates in modulating cytochrome P-450 and antioxidant defense enzyme activities. **Metabolism**, v.50, n.10, p.1130-5, 2001.
- VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. **J. Agric. Food Chem**, v.46, p.4113-4117, 1998.
- VERKERK, R.; VAN DER GAAG, M.S.; DEKKER, M.; JONGEN, W.M. Effects of processing conditions on glucosinolates in cruciferous vegetables. **Cancer Lett**, v.114, n.1-2, p.193-4, 1997.
- VETUANI, S.; ANGUSTI, A.; MANDFREDINI, S. The antioxidant and pro-oxidants network: an overview. **Current Pharmacological design**, v.10, n.14, p.1677-1694, 2004.
- VULCAIN, E.; GOUPY, P.; CARIS-VEYRAT, C.; DANGLES, O. Inhibition of the metmyoglobin-induced peroxidation of linoleic acid by dietary antioxidants: action in the aqueous vc lipid phase. **Free Radical Research**, v.39, n.5, p.547-563, 2005.
- WCRF. **Food, Nutrition and the Preventionof Cancer: a Global Perspective**. Disponível em: <http://www.aicr.org>. Acesso em 21 de abril de 2002.
- WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **J. Agric. Food Chem**, v.47, n.5, p.1801 -1812, 1999.
- WICKENS, A.P. Ageing and the free radical theory. **Respir Physiol**, v.128, n.3, p.379-91, 2001.
- WILHELM FILHO, D.; SILVA, E.L.; BOVERIS, A. Flavonoides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R. A. e CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapeco SC: Argos, p.318-334, 1999
- WILLIAMS, C.M. Nutritional quality of organic food: shades of grey or shades of green? **Proc Nutr Soc**, v.61, n.1, p.19-24, 2002.

- WORTHINGTON, V. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetable and grains. **The journal of alternative complementary medicine**, v.7, n.2, p.161-173, 2001.
- YAMAGUCHI, T.; KATSUDA, M.; ODA, Y.; TERAOKA, J.; KANAZAWA, K.; OSHIMA, S.; INAKUMA, T.; ISHIGURO, Y.; TAKAMURA, H.; MATOBA, T. Influence of Polyphenol and Ascorbate Oxidases during Cooking Process on the Radical-Scavenging Activity of Vegetables. **Food Sci. Technol. Res.**, v.9, n.1, p.79-83, 2003.
- YAMAMOTO, Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. **J Dermatol Sci**, v.27 Suppl 1, p.S1-4, 2001.
- YOUNG, J.E.; ZHAO, X.; CAREY, E.E.; WELTI, R.; YANG, S.S.; WANG, W. Phytochemical phenolics in organically grown vegetables. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.49, n.12, p.1136-1142, 2005.
- YU, F.; SHENG, J.; XU, J.; AN, X.; HU, Q. Antioxidant activities of crude tea polyphenols, polysaccharides and proteins of selenium-enriched tea and regular green tea **European Food Research and Technology**, v.225, n.5-6, p.843-848, 2007.
- ZÁRATE, N.A.H.; VIEIRA, M.C.; GRACIANO, J.D.; GASSI, R.P.; ONO, F.B.; AMADORI, A.H. Produção de cebolinha, solteira e consorciada com rúcula, com e sem cobertura do solo com cama-de-frango. **Semina Ciências Agrárias**, v.27, n.4, p.505-514, 2006.

## ANEXO 1 – QUESTIONÁRIO COM PRODUTOR ORGÂNICO DA RMC

Nome da propriedade:			
Localização:			
Hectares:			
Mão de obra	<input type="checkbox"/> n. de trabalhadores da família - incluindo o casal <input type="checkbox"/> n. de trabalhadores contratados		
Grão de Instrução:	<input type="checkbox"/> 1º. grau <input type="checkbox"/> 2º. grau <input type="checkbox"/> 3º. grau		
Agricultor desde quando:	<input type="checkbox"/> sempre foi <input type="checkbox"/> tempo de atividade na agricultura		
Culturas que produz	Quantidade produzida		
<input type="checkbox"/> Produz outras culturas de formas convencional			
<input type="checkbox"/> Tem áreas com floresta?			
<input type="checkbox"/> A produção é diversificada			
<b>Status da Propriedade</b>			
<input type="checkbox"/> Produz orgânico ou <input type="checkbox"/> outra forma de cultivo ecológico <input type="checkbox"/> a quanto tempo <input type="checkbox"/> Certificadora..... A quanto tempo? <input type="checkbox"/> Em processo de certificação <input type="checkbox"/> Participa de alguma organização ou movimento social? Qual? .....			
Recebe assistência técnica?	Com que frequência?		
<b>Destino da produção</b>			
<input type="checkbox"/> consumo próprio <input type="checkbox"/> venda direta ao consumidor <input type="checkbox"/> venda para intermediários <input type="checkbox"/> exportação <input type="checkbox"/> feiras <input type="checkbox"/> supermercados			
<b>Abastecimento de água</b>			
<input type="checkbox"/> Rede <input type="checkbox"/> poço <input type="checkbox"/> Fonte natural na propriedade <input type="checkbox"/> Fonte de propriedade vizinha			
<b>Esgoto</b>			
<input type="checkbox"/> Canalizado <input type="checkbox"/> Fossa/vala			
Sistema de adubação empregado:			
<b>DADOS DAS AMOSTRAS COLETADAS</b>			
Hortaliça	Quantidade	Data	Horário

**ANEXO 2 – Número Mais Provável (NMP) e intervalo de confiança ao nível de 95% de probabilidade, para diversas combinações de tubos positivos em séries de três tubos**

<i>Combinações de tubos +</i>	<i>Série de Três Tubos</i>		
	<i>Intervalo de Confiança</i>		
	<i>(95%)</i>		
	<i>NMP/g</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
0-0-0	<3	<0,5	<9
0-0-1	3	<0,5	9
0-1-0	3	<0,5	13
0-2-0	-	-	-
1-0-0	4	<0,5	20
1-0-1	7	1	21
1-1-0	7	1	23
1-1-1	11	3	36
1-2-0	11	3	36
2-0-0	9	1	36
2-0-1	14	3	37
2-1-0	15	3	44
2-1-1	20	7	89
2-2-0	21	4	47
2-2-1	28	10	150
2-3-0	-	-	-
3-0-0	23	4	120
3-0-1	39	7	130
3-0-2	64	15	380
3-1-0	43	7	210
3-1-1	75	14	230
3-1-2	120	30	380
3-2-0	93	15	380
3-2-1	150	30	440
3-2-2	210	35	470
3-3-0	240	71	1300
3-3-1	460	150	2400
3-3-2	1100	>150	4800
3-3-3	≥2400		>4800